

PHYSIKALISCHE STUDIEN
ZU DEN ANWENDUNGSPOTENTIALEN
KALTER ATMOSPHÄRENDRUCKPLASMEN
IM BEREICH DER
SCHÄDLINGSBEKÄMPFUNG

KUMULATIVE
DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES
DER NATURWISSENSCHAFTEN

VORGELEGT VON
Lars ten Bosch
AUS CELLE

genehmigt von der
Fakultät Natur- und Materialwissenschaften
der Technischen Universität Clausthal

Tag der mündlichen Prüfung
2. September 2020

Dekan

Prof. Dr.-Ing. habil. Karl-Heinz Spitzer

Vorsitzender der Promotionskommission

Prof. Dr.-Ing. Holger Fritze

Betreuer

Prof. Dr. rer. nat. habil. Wolfgang Viöl

Gutachter

apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Maus-Friedrichs

Externer Gutachter

Prof. Dr. rer. nat. Thomas Arnold

*„I may not have gone where I intended to go,
but I think I have ended up where I needed to be.“*

— Douglas Adams, **The Long Dark Tea-Time of the Soul**

Danksagung

Ich danke Prof. Dr. rer. nat. habil. Wolfgang Viöl für das mir entgegengebrachte, Vertrauen von Beginn meiner Promotion an bis zum heutigen Tag. Die vielen Frei- und Gestaltungsspielräume haben mir stets viel abverlangt und mir die Möglichkeit gegeben über mich selbst hinauszuwachsen. Ich danke Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Maus-Friedrichs und Herrn Dr. rer. nat. Oliver Höfft für die Möglichkeiten mich im universitären Umfeld beweisen zu können und mich als Doktorand der TU Clausthal zugehörig zu fühlen.

Darüber hinaus möchte ich meinen Freunden danken, die ich hier nicht alle nennen kann. Besonders aber danke ich meinem Mentor und Freund Prof. Dr. rer. nat. Christoph Gerhard für das Öffnen vieler Türen. So ermöglichte er mir über sein Netzwerk die Zusammenarbeit mit internationalen Forschungsgruppen des Politecnico di Milano, in Mailand sowie des Institute d'Optique Graduate School in Palaiseau, Paris, wo ich z.T. kurze Zeit als Gastwissenschaftler verbringen durfte. Eine Zeit, die mir viel bedeutet. Ebenso danke ich meinem Freund und Mentor Dr. rer. nat. Georg Avramidis für die zu jeder Stunde offenen Türen und Ohren sowie eine offene Telefonleitung. So konnte ich stets diverse Themen, fachlicher wie persönlicher Art, kontrovers diskutieren und mich neu ausrichten. Dies hat mich auch in schwierigen Zeiten auf Kurs gehalten und in mir zu großen Teilen die Resilienz geschaffen, mit welcher ich mich heute ausgestattet finde.

Ich danke Prof. Dr. rer. nat. Stephan Wieneke, welcher mir mit seiner offenen Art bereits früh während meines Studiums die Möglichkeit gab, als Projektleiter zu agieren, Fehler zu machen und Erfahrungen zu sammeln. Von ihm erlernte ich das Erstellen erster, durchdachter Drittmittelanträge, auf deren Basis ich mich in den folgenden Jahre schnell weiterentwickeln konnte.

Ebenso danke ich meinen Freunden Henning Steen und Dominik Siebert, auf deren Unterstützung ich zu jeder Tages und Nachtzeit zurückgreifen konnte.

Ferner danke ich all meinen Kollegen für ihre offene Art und ihre Unterstützung in den vergangenen Jahren. Ihr wart mir stets eine große Hilfe und es hat mich gefreut mit euch arbeiten zu dürfen.

Über Allem danke ich aber meiner Frau Steffi. Mit ihrer Stärke hat sie mir in dieser oft auch schwierigen Zeit den Rücken gestärkt, mich bei Erfolgen auf den Boden der Tatsachen zurückgeholt, mich aus Tiefpunkten herausgeholt und mir den Rücken frei gehalten.

Meinen Kindern danke ich für die vielen Möglichkeiten mit Ihnen gemeinsam auch immer wieder Kind sein zu dürfen und die Erinnerung daran, dass wir jeden Moment und jeden Lebensabschnitt genießen sollen.

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	4
3	Stand der Forschung	7
4	Grundlagen	22
4.1	Grundlegende Plasmaparameter	26
4.2	Zur Erzeugung von Gasentladungen	30
4.3	Statistische Beschreibung von Plasmen	33
5	Wissenschaftliche Publikationen	45
5.1	Der Plasmaläusekamm — Eine physikalische Pedikulogetherapie . .	47
5.2	Effekte eines kalten Atmosphärendruckplasmas auf menschliches Haarmaterial	84
5.3	Insektizide Wirkung plasmabehandelten Wassers	96
5.4	Plasmabasierter Abbau <i>fusarium</i> -, <i>aspergillus</i> - und <i>alternariaspezi-</i> <i>scher</i> Mykotoxine	116
6	Diskussion und Ausblick	132
7	Literaturverzeichnis	146
	Literaturverzeichnis	166
	Anhang	167

1 Zusammenfassung

Resultierend aus diversen bekannten Unbedenklichkeitsabschätzung parametrisierter, medizinischer Kaltatmosphärendruckplasmaquellen (kADP-Quellen) zur Anwendung am Menschen liegt der Fokus der hier vorliegenden Arbeit mit der plasmabasierten Pedikuloetherapie auf der Erweiterung des medizinischen Therapiefelds solcher Plasmen im Sektor der humanparasitären Krankheitsbilder. Durch die Bearbeitung dieses spezifischen Themas zielt die vorliegende Arbeit aber auch darauf ab, das Anwendungspotential der kADP zur generellen Schädlings- und Insektenbekämpfung hervorzuheben. Die hierbei gemachten Erkenntnisse bezüglich verantwortlicher Wechselwirkungsmechanismen beim Einsatz von Plasmen zur Insektenbekämpfung sind auf vielfältige Anwendungsfelder übertragbar. So beispielsweise auf den landwirtschaftlichen Sektor im weiteren Sinne und dem Bereich Urproduktion im Besonderen. Hier ist gerade das Auftreten von Lager- und Pflanzenschädlingen immer wieder ein großes und kostenintensives Thema, dass nach alternativen Lösungsansätzen verlangt. Zur Evaluierung der Einsatzmöglichkeiten der Plasmatechnologie im anwendungsfeldübergreifenden Bereich der Schädlingsbekämpfung wurden deshalb über die Therapierung humanparasitären Befalls weitere Aspekte der Schädlingsbekämpfung betrachtet. Basierend auf Studien zur Auswirkung einer Plasmaexposition auf den Modell-Schädling *Pediculus humanus humanus* erfolgt eine Abschätzung verantwortlicher Wechselwirkungseffekte. Ferner wurde das hierbei verwendete Gerät auch hinsichtlich der Unbedenklichkeit seines Einsatzes am End-Anwender unter Gesundheitsaspekten sowie seiner potentiell negativen Auswirkungen auf menschliches Haarmaterial untersucht.

Im Anschluss wird die Einsatzmöglichkeit plasmabehandelten Wassers (PAW) zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen evaluiert. Hierbei konnte ein insektizider Effekt der Flüssigkeiten nachgewiesen werden.

Abschließend wurde mit Untersuchungen zum plasmabasierten Mykotoxinabbau ein weiteres, großes Problemfeld aus dem Lebensmittel- und Agrarbereich bearbeitet. Mit der präsentierten Arbeit zum plasmabasierten Mykotoxinabbau wurden

erstmalig Erkenntnisse bezüglich des Substrateinflusses bei Verwendung einer Plasmaentladung zum Abbau toxischer Pilzmetaboliten gewonnen und veröffentlicht. Das deutliche Aufzeigen der Substratabhängigkeit des Prozesses zielt darauf ab, dass Studien und Behandlungsmethoden beispielsweise im Anwendungsbereich der Lebens- o. Tierfuttermittel künftig dichter an der Zielanwendung entworfen werden müssen, um in dem jeweiligen Kontext Potentiale und Beschränkungen der Technologie am realen Substrat eindeutig evaluierbar zu machen. Ein schlichtes Aufzeigen einer Machbarkeit unter idealen Bedingungen ohne Einbeziehung derartiger Aspekte wäre ungenügend.

Die Anwendung kalter Atmosphärendruckplasmen hat Einzug in unterschiedlichste, medizinische Bereiche gefunden. Durch ihre große Anwendungsbreite etabliert sie sich zunehmend in Form eines eigenständigen Forschungsbereichs, welcher als *Plasmamedizin* bekannt ist. Die dort unter Anderem zur antimikrobiellen Wirkung von Plasmen gemachten Erkenntnisse gaben den Anlass das Blickfeld zu erweitern und im Rahmen dieser Arbeit die Anwendungsmöglichkeiten der Technologie im Bereich der Bekämpfung von Humanparasiten zu erforschen.

Nationale und internationale Forschungsgruppen begannen früh sich mit den Einsatzmöglichkeiten der kADP zur Desinfektion, sowohl von Wunden als auch frischer Erzeugnisse und Produkte im Lebensmittelkontext zu befassen. Ein in jüngerer Zeit in Vergessenheit geratener Zweig der Plasmatechnologie, welcher zunehmend wieder stärker beforscht wird, ist ihr Einsatz im landwirtschaftlichen Bereich. Unter der Bezeichnung *Plasma Agriculture* gelangt dieser zunehmend zu Popularität, was nicht zuletzt an den immer schärfer werdenden Regularien bezüglich einsetzbarer Pestizide liegen kann, zu welchen diese Technologie eine Ergänzung darstellen kann.

Das Ziel der hier präsentierten Arbeit ist das Aufzeigen der Potentiale dieser Technologie als Alternative zu einer auf der Verwendung von Pestiziden beruhenden Bekämpfungsstrategie. Im Bereich der Landwirtschaft und Lebensmittelbranche ist die Entwicklung umweltfreundlicher, schonender und verträglicher Verfahren, welche auch unter *Compliance*-Aspekten eine hohe Produktivität der Branchen gewährleistet, unerlässlich. Durch das Aufzeigen der Möglichkeiten zur Fachgebiet übergreifenden Anwendung einer plasmabasierten Schädlingsbekämpfung (PBPM¹) stellt die Arbeit somit einen Brückenschlag zwischen den Bereichen *Plasmamedizin* und *Plasma Agriculture* dar. Zwei Bereiche, in welchen in der Vergangenheit

¹*Plasma Based Pest Management*

die interessanten und vielversprechenden Möglichkeiten der Plasmatechnologie zur Bekämpfung Schadinsekten prinzipiell erkannt, jedoch nicht ausreichend ausgeschöpft und erforscht wurden.

2 Einleitung

Das Prinzip des Einsatzes von Atmosphärendruckplasmen zur Bekämpfung von Schadinsekten ist spätestens seit den 1990’er Jahren bekannt und wurde hier in seinen Grundzügen erstmals veröffentlicht [1]. Eine umfassende Erforschung sowie eine zielgerichtete Entwicklung hin zu anwendbaren Geräten, Anlagen oder Prozessen mit Praxisrelevanz hat bisher kaum stattgefunden. In die so hinterlassene Forschungslücke fügt sich die vorliegende Arbeit ein. Sie ist eine der Wenigen, welche sich diesem Themengebiet von wissenschaftlicher Seite nähern und sich, im Gegensatz zu bisher veröffentlichten Studien, dem Aufzeigen konkreter Anwendungspotentiale widmet. Zur Verdeutlichung wurde deshalb die Darstellung des aktuellen Stands von Forschung und Entwicklung im Kapitel 3 aufgegriffen. Bei den hier dargestellten Arbeiten handelt es sich um all jene veröffentlichten Studien zum Thema Schädlingsbekämpfung durch physikalische Plasmen, welche im Englischsprachigen auffindbar sind².

Der Fokus der vorliegenden Arbeit liegt deshalb nicht darauf erneut die generelle Möglichkeit der Plasmatechnologie zur Bekämpfung von Schadinsekten aufzuzeigen. Vielmehr soll durch Untersuchungen an konkreten Anwendungsbeispielen das Potenzial der Technologie belegt werden. Dies geschieht zunächst am Beispiel der Kleiderlaus, welche als Modell für den eigentlichen Zielorganismus der Kopflaus dient. Hierbei konnten die zu einer verlässlichen Evaluierung notwendigen Schritte aufgezeigt werden. Diese bestehen aus Untersuchungen zur Wirksamkeit, zur Anwendersicherheit und darüber hinaus dem Aufzeigen möglicher Wirkmechanismen. Diese basieren auf der Verwendung eines eigens für die Behandlung einer Pedikulose entwickelten Plasmaläusekamms. Das Haupthaar eines Endanwenders

²Die Recherche hierzu wurde nach bestem Wissen und Gewissen durchgeführt, erhebt aber dennoch nicht notwendiger Weise einen Anspruch auf Vollständigkeit. Aussage und Gesamtbild eines nur gering beforschten fachlichen Feldes bleiben durch etwaige Unvollständigkeit jedoch unberührt. Die Suche wurde unter Verwendung des *Web of Science* von *Clarivate Analytics* durchgeführt. Suchbegriffe waren hierbei u.A.: *Insect*, *Pest*, *Plasma*, *Atmospheric Pressure*, *Alternative*, *Pest Treatment*, sowie diverse Kombinationen hiervon.

ist durch Anwendung des Plasmaläusekamms kurzzeitig einer Plasmaexposition unterworfen und könnte somit potentiell verändert werden. In Kapitel 5.2 werden deshalb Ergebnisse präsentiert, die sich der potentiellen Veränderung menschlichen Haarmaterials durch eine Plasmabehandlung widmen.

Im Kapitel 4, werden kurz einige grundlegende Zusammenhänge erläutert. Dies soll es ermöglichen einen geeigneten Einstieg in die Thematik der physikalischen Plasmen zu finden. Hierbei werden darüber hinaus auch einige der wichtigsten Werke aufgeführt, welche ein vertiefendes Studium der theoretischen Zusammenhänge der Plasmatechnologie ermöglichen können. Durch den Verweise auf bestehende Literatur soll somit eine zu redundante Darstellung, verglichen mit einschlägigen Veröffentlichungen und Werken der bekannten Fach- und Begleitliteratur, vermieden, aber dennoch ein geeigneter Startpunkt in das Thema aufgezeigt werden.

Darüber hinaus wird im Grundlagenkapitel kurz die Relevanz einer umfassenden Charakterisierung verwendeter Plasmen hervorgehoben und erläutert.

Im Anschluss an die Präsentation der wissenschaftlichen Ergebnisse in Kapitel 5 werden in Kapitel 6 die in den vorher präsentierten Veröffentlichungen gemachten Erkenntnisse in einem breiteren und Fachgebiet übergreifendem Kontext diskutiert. Hierbei werden auch bislang unveröffentlichte Erkenntnisse, welche im Rahmen der Erstellung veröffentlichter Ergebnisse gemacht wurden, präsentiert und im unmittelbaren Kontext der jeweiligen Studien erörtert. Durch die Darstellung der Ergebnisse erster Untersuchungen plasmabehandelter Insekten mittels tomographischer Verfahren wie, *Single Plain Illumination Mikroskopy* (SPIM) oder *Optical Coherence Tomography* (OCT) wurde ersten Hinweisen bezüglich verantwortlicher Wirkmechanismen einer Plasmabehandlung nachgegangen. Neben der Präsentation der Plasmatechnologie als potentes Mittel zur Bekämpfung von Schadinsekten zeigt die vorliegende Arbeit somit auch analytische Möglichkeiten auf, welche ebenfalls für den Bereich der Entomologie, im Kontext anatomischer Studien, interessant sein könnten. Zudem gelang es die Anwendung einer künstlichen Fütterungsmethode zur Ernährung der Läuse heranzuziehen. Hierdurch war es möglich, das Verfahren der sog. TC-LIF-Methodik (*Two Color-Laser Induced Fluoresence*) für den Einblick in die, während einer Plasmaexposition im Innern der behandelten Schadinsekten auftretenden Temperaturverhältnisse handhabbar zu machen. Das Kapitel 6 stellt abschließend noch einmal den Brückenschlag zwischen den Gebieten der *Plasma Medizin* (Parasitenbekämpfung), der *Plasma Agriculture* (Schadinsektenbekämpfung) sowie der *Lebensmittelbranche* (Myko-

toxinbekämpfung/Lagerschädlingsbekämpfung) dar und hebt weitere, mögliche Anknüpfungspunkte, welche der vorliegenden Arbeit folgen können, hervor.

3 Stand der Forschung

Das Bestreben die Bezeichnung *Plasma* für elektrische Gasentladungsphänomene zu verwenden, sowie eine damit einhergehende, bestimmte Definition des Begriffs in diesem Kontext, tritt erstmalig in einer öffentlichen Korrespondenz von *Irving Langmuir* mit seinem Mitarbeiter *Harold M. Mott-Smith* auf [2]. Aus dieser geht hervor, dass *I. Langmuir* diese Begrifflichkeit im Rahmen seiner Arbeiten bereits vor dem Jahre 1927 innerhalb seiner Arbeitsgruppe verwendet hat, um eine möglichst präzise Beschreibung beobachteter Phänomene vornehmen zu können. *Langmuir* versuchte durch die Einführung dieser Begrifflichkeit *Plasma* eine klarere Abgrenzung zwischen dem relativ homogenen (Haupt-) Gebiet einer Gasentladung und seinen Randbereichen einzuführen, in welchen eine nicht zu vernachlässigende Wechselwirkung mit den umgebenden Wänden seines Versuchsaufbaus in Erscheinung tritt und für starke Inhomogenitäten sorgt [3]. Nachdem man erkannt hatte, dass sich den, durch ihre Leuchterscheinung auffallenden, energetischen Gasgemischen eine vereinheitlichende, grundlegende Physik zuordnen ließ, fand der Ansatz einer ebenfalls vereinheitlichenden Bezeichnung in den Folgejahren schnell Anklang. Die eindeutige Verwendung des Begriffs *Plasma* sowie die mit ihr einhergehenden, grundlegenden Erkenntnisse zu ihrer Funktionsweise, lässt sich ihrer technischen Anwendung und Entwicklung zeitlich deutlich nachdatieren. Hierdurch ist eine auch heute noch wichtige Eigenschaft der als *Plasmen* bekannten Gasentladungsphänomene früh erkennbar: Der technische Entwicklungsstand der Plasmatechnologie im Sinne existierender Ideen und erkannter Anwendungsszenarien scheint seiner Zeit immer etwas voraus zu sein. Dieser Eigenschaft ist es wohl auch zuzurechnen, dass Sie sich mit der Zeit durch ihre große Diversifizierung in vielen ökonomischen Sektoren zu einer vollwertigen Schlüsseltechnologie entwickelt hat [4–11], so zum Beispiel auch in den Bereichen der Herstellung von Hightech-Mikroelektronik [12], optischer Komponenten [13], u.v.m..

Die Kategorisierung elektrisch erzeugter Gasentladungen erfolgt heutzutage häufig nach den Temperatur- und Druckregimes, welche sich ihnen zuweisen lassen. Diesen Kategorien sind weitere, untergeordnete Beschreibungen ihrer Erzeugung zu Grunde liegender Mechanismen zuweisbar. Man unterscheidet beispielsweise nach Gleich- und Wechselspannungen unterschiedlicher Amplituden und Stromstärken, wobei bei Letzteren ebenfalls die verwendeten Anregungsfrequenzen (Hz- bis GHz-Regime) sowie ihre Mechanismen zur Einkopplung in ein Gasvolumen für ihre Beschreibung maßgeblich sein können. Diese Einkopplungsmechanismen werden häufig von ihnen eigenen Elektrodenanordnungen begleitet, welche die effiziente Einkopplung der elektrischen Energie in ein gewähltes Gasvolumen erst ermöglichen. Diese werden ebenfalls zu Ihrer Beschreibung herangezogen. Eine umfassende Darstellung technischer Plasmen und den ihnen zugrundeliegenden Kategorisierungen sind in einschlägigen Literaturquellen zu finden; z. B. auch in [14–17] u. v. m. .

Beim Einsatz technisch erzeugter Plasmen in Anwendungsszenarien, bei welchen diese mit biologischen, zum teil lebenden, Oberflächen in Wechselwirkung treten, ist die strenge Einhaltung eines Parameterkorridors unumgänglich, welcher die Schädigung des betreffen Materials minimiert. Dies trifft vor Allem bzgl. der nutzbaren Temperaturbereiche sowie Konzentrationen reaktiver Spezies bei deren Anwendung zu. Praktikable, d. h. kosteneffiziente und wartungsarme Aufbauten zur Erzeugung kalter Plasmen, welche bei geringem technischen Aufwand häufig gute Ergebnisse erzielen, stellen Quellendesigns dar, welche sich auf die Verwendung von Elektrodenkonfigurationen stützen, die auf dem Prinzip der sog. dielektrisch behinderten Entladung basieren [18]. Einer der ersten Berichte zum Einsatz dielektrisch behinderter Entladungen (DBE) wurde vom wohlbekannten, deutschen Wissenschaftler, Erfinder, späterem Firmengründer und internationalen Unternehmer *Werner von Siemens* veröffentlicht. In den 1850’er Jahren befasste sich *Werner Siemens* mit Studien zur Kabelkapazitäten und veröffentlichte in seiner Arbeit zur Kapazitätsbestimmung 1857 einen den Aufbau beschreibenden Passus, welcher später unter dem Namen *Siemenssche Ozonröhre* bekannt wurde [19]. Die hier vorgestellte Röhre wurde als DBE aufgebaut, und bot durch ihre stete Fortentwicklung die Möglichkeit sich z.B. mit Anwendungen zur Trinkwasserreinigung zu befassen [18, 20, 21].

Die Anwendungsbereiche, innerhalb derer Plasmen mit biologischen Materialien in Wechselwirkung gebracht werden, stammen so zumeist aus den meist unter dem Begriff der *Life-Sciences* geführten Wissenschaftszweige. Hieraus resultiert dann der

neuerlich verwendete Sammelbegriff der *Plasma-Life-Sciences*, innerhalb derer aktuell ein Schwerpunkt auf der Anwendung der Plasmatechnologie in den Gebieten der **Medizin**, der **Agrartechnologie** und **Lebensmittelforschung** liegt. Abstrakt betrachtet definiert sich der Bereich der *Plasma-Life-Sciences* unter anderem über einen der in Abb. 3.1 dargestellten Pfade oder Kombinationen hieraus.

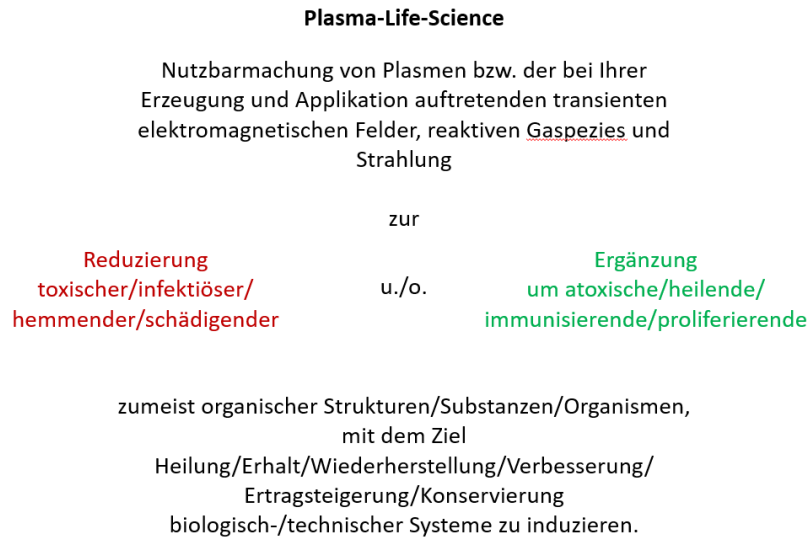


Abbildung 3.1: Graphische Darstellung möglicher Synergien und Ziele im Bereich der "Plasma-Life-Sciences"

Die Potentiale kalter Plasmen, insbesondere der DBE im sog. *Life-Science*-Bereich, fußen häufig auf synergistisch auftretenden Wirkmechanismen, welche man sich vor Allem in den Bereichen der Medizin, Agrar- sowie Lebensmitteltechnologie zunutze macht. So stellt das simultane Auftreten transienter, elektrischer Felder, erhöhte Konzentrationen reaktiver Spezies (zumeist div. reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies [22, 23]) sowie elektromagnetischer Strahlung (desinfizierende Wirkung vor allem durch UV-Strahlung [24]) eine Synergie dar, welche über die schiere Addition der Effektivität einzelner Wirkmodi hinausgeht [25, 26].

Anwendungsziele sind hierbei z. B. die Herstellung dekontaminierter sowie steriler Oberflächen. Durch die Anwendung kalter Plasmen lassen sich empfindliche Oberflächen bis hin zu lebendem Gewebe modifizieren und behandeln wodurch sich unterschiedlichste neue Therapieansätze entwickelten. Aus ersten Forschungsergebnissen, welche beträchtliche Desinfektionsraten aufzeigten [27–33], die mittels Plasmaentladungen unter Atmosphärendruck erzielt werden konnten, entwickelte sich

in jüngster Vergangenheit das hochspezialisierte und stetig wachsende Forschungs- und Arbeitsfeld der *Plasmamedizin*. Mit ihrer großen Vielzahl möglicher, therapeutischer Anwendungen [7, 34–47] sowie deren stete Fortentwicklung und Erforschung grundlegender Wechselwirkungsmechanismen mit unterschiedlichen, (krankhaften) organischen Geweben, ist die Plasmamedizin ein Feld mit wachsender Bedeutung [35, 44, 45, 48, 49]. Dies wird auch durch die große Zunahme publizierter Fachartikel, wie in Abb.: 3.2 dargestellt, ersichtlich.

Nachdem sich durch unterschiedlichste Forschungsprojekte stets eine hohe Kongruenz von Annahmen zu verantwortlichen Wechselwirkungsmechanismen beim Vergleich gemessener und simulierter Werte zeigte, war es möglich prominente, verantwortliche Wirkmechanismen zu identifizieren (siehe hierzu z. B.: [49–54]). Hierdurch konnten die verwendeten Plasmen gezielt auf die jeweiligen Anwendungen parametrisiert und optimiert werden. So wurden z.B. hohe Konzentrationen reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies (RONS), welche in behandeltes Wundgewebe diffundieren, als maßgebliche therapeutische Mechanismen identifiziert; z.B. als Apoptoseinitiator in der Onkologie [55]. Die Produktion dieser reaktiven Spezies kann dabei durch gezielte Anpassung von Inputparametern (applizierte Energiedichten, Duty-Cycle, Anregungsfrequenzen, Elektrodengeometrien etc.) und verwendeten Arbeitsgasen optimiert werden. So wurde der therapeutische Erfolg der Plasmatechnologie beleg- und nachvollziehbar und ermöglicht somit erste Entwicklungsschritte in Richtung geregelter, angepasster und dosisbasierter Plasmatherapien. Die Grundlagenforschung zur Aufklärung auftretender Wirkmechanismen im Umfeld humanmedizinischer Studien, so z. B. die Rolle, welche reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies bei der Desinfektion und Wundheilung spielen und wie diese vor allem beim Kontakt mit feuchten Wundmilieus bevorzugt gebildet werden [22, 56], fußten in der Erforschung weiterer Anwendungsgebiete (z. B. veterinärmedizinische Anwendungen [47], Saatgutbehandlung [57, 58], Lebensmittelbehandlung [9]) denen mutmaßlich ähnliche Mechanismen zu Grunde liegen.

Durch diese Grundlagenarbeit entwickelte sich, durch Übertragung der Ergebnisse aus humanmedizinischen Anwendungsfeldern wie z. B. der Dermatologie sowie der Onkologie auf veterinärmedizinische Problemstellungen [47] schnell ein Zugang der Technologie in unterschiedliche Anwendungszweige der Agrar- und Lebensmittelwirtschaft [9, 57, 58]. Anwendungen, welche sich mit der Dekontamination von Oberflächen befassten, wurden bezüglich ihrer Übertragbarkeit auf

landwirtschaftliche Produkte aus der Urproduktion sowie der ersten und zweiten Verarbeitungsstufe untersucht und haben ihren Ursprung unmittelbar im Bereich der Plasmamedizin. Sie befassen sich mit der Abtötung von Mikroorganismen, Bakterien, Viren, sowie Pilzen und deren Sporen. Die fachliche Breite möglicher Applikationen innerhalb dieses Feldes reicht von Anwendungen zur Stalldesinfektion und Luftreinigung (Geruchs- und Mikroorganismenreduktion) über Anwendungen zur Wundbehandlung am Tier sowie der Desinfektion von Schüttgütern (Saatgut, getrocknete/gefrorene Lebensmittel etc.), Werkzeugen und Geräten bis hin zum Einsatz in der im Bereich der Personalhygiene [59].

Im Gegensatz zur Plasmamedizin zielt die Dekontamination landwirtschaftlicher Güter mittels kalter Plasmen auch auf die Entfernung toxischer Stoffe, wie z.B. Pestizidrückständen [60, 61] oder Mykotoxinen [62–69] ab. Das Ziel der Untersuchungen zur Dekontamination dieser Güter ist es u. A., die Wiedernutzbarmachung zuvor übermäßig kontaminierter Rohstoffe und Produkte zu prüfen.

Auch die Möglichkeit einer Behandlung von Saatgütern vor der Aussaat wurde untersucht. Unterschiedliche Studien zeigten hierbei, dass ein beschleunigtes Auflaufen sowie ein beschleunigter Massenzuwachs derart behandelter Saatgüter zu verzeichnen war [58]. Der Begriff der sogenannten *Plasma Agriculture* ist ein sich erst langsam etablierender Begriff für derartige Anwendungen. Gerade im nicht-europäischen Ausland ist aber eine deutliche Zunahme an Forschungsaktivitäten zu verzeichnen. Neben der Behandlung von Saatgütern [57, 58, 70–72] ist auch der Einfluss von Plasmen bzw. elektrischen Entladung auf das Wachstumsverhalten von z. B. Shiitake Pilzen untersucht worden [73].

Das Novum des Themenkomplexes zeigt sich auch in der, verglichen mit dem Bereich der Plasmamedizin, geringe Anzahl Veröffentlichungen, welche im Bereich der *Plasma Agriculture* existieren. Einige Publikationen, welche dem Themengebiet durch seine erst kürzliche Etablierung der Bezeichnung *Plasma Agriculture* allmählich eindeutig zugeordnet werden können, lassen sich hierbei wie in Abb.: 3.2 dargestellt beispielsweise auch durch die Kombination der Suchbegriffe *Plasma* und *Saatgutbehandlung/Seed Treatment* auffinden. Hierbei wird die Bezeichnung *Plasma Agriculture* in einer Fachpublikation von Masafumi Ito et al. [74] erstmals eingeführt, in welcher dieser Bereich als separater Forschungs- und Anwendungszweig identifiziert wurde. Seitdem richtet auch die forschende Community zunehmend ihr Augenmerk auf artverwandte Themen, welches sich auch in der Etablierung einer

eigenen Fachtagung, der IWOPA ³, im Jahre 2016 niederschlug.

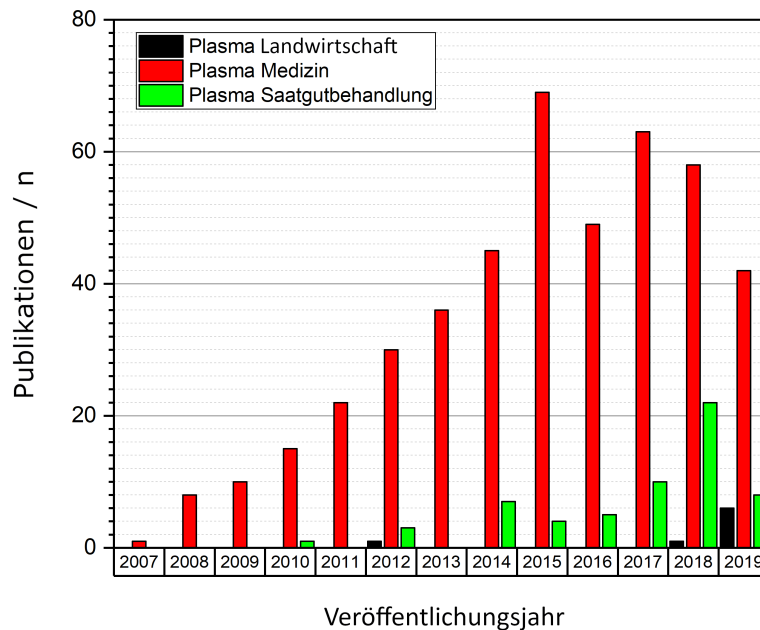


Abbildung 3.2: Historischer Verlauf der Anzahl veröffentlichter Artikel pro Jahr sortiert nach den Suchbegriffen: *Plasma Agriculture* (schwarz), *Plasma Medicine* (rot) und *Plasma Seed treatment* (grün). Die Publikationslage unterstreicht deutlich den Neuheitsgrad, welcher der Plasmatechnologie im Agrarbereich zugemessen werden kann. Ein Vergleich mit Tab.: 3.1 ermöglicht eine vergleichbare Aussage für den Bereich der plasmabasierten Schädlingsbekämpfung (PBPM). Verwendung der Daten mit freundlicher Genehmigung von *Clarivate Analytics*, (*Journal Citation Reports Science Edition* (Clarivate Analytics, 2019)).

Die Potentiale, unterschiedlichen Ausrichtungen und mögliche Anwendungsgebiete, sowie deren generelle Bedeutung werden beispielsweise in einem kürzlich erschienen sog. *White Paper* einer international tätigen Forschungs-Community ausbreitet [75].

Ein wichtiges aber zum aktuellen Zeitpunkt nur selten behandeltes Thema ist die Anwendung kalter Atmosphärendruckplasmen zu Bekämpfung von Schadinsekten. Aufgrund aktueller Entwicklungen und Beschlüsse in der EU, den Pestizideinsatz drastisch herabzusetzen, wird dieses Themenfeld künftig weiter an Relevanz gewinnen.

Mit dem in Abb. 3.3 dargestellten Wegfall einsetzbarer Pestizide sieht sich der landwirtschaftliche Sektor vor das Problem gestellt kurzfristig effektive, schadstoff-

³International Workshop On Plasma Agriculture

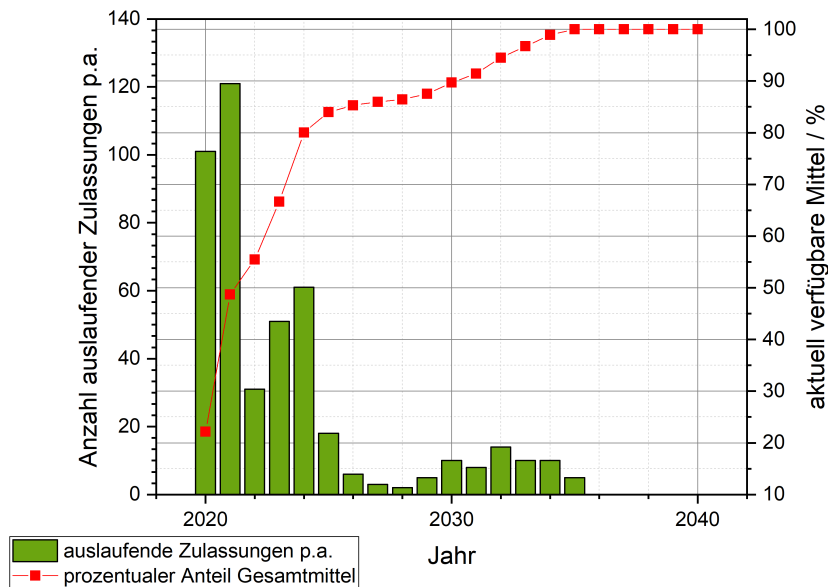


Abbildung 3.3: Planungen des Europäischen Parlaments zum Verbot aktuell in der EU zugelassener Pestizide (Stand 08/2019: 478 Mittel zugelassen). Der Graph basiert auf den frei zugänglichen Daten der *Pestiziddatenbank* des Europäischen Parlaments zu finden unter ec.europa.eu/food/plant/pesticides. Es wird ersichtlich, dass avisierte Verbote, welche bis zum Jahre 2025 einsetzbaren Mittel vorrsth. um mehr als 360 Stck. reduzieren wird.

arme Alternativen zum Einsatz bringen zu müssen. Diese Notlage betrifft eine Vielzahl von Anwendungen angefangen im Bereich des Pflanzenschutzes, über die Bekämpfung von Lagerschädlingen, die Vermeidung von Fraßschäden an Jungpflanzen, die Supression von Pilzen, Bakterien und Viren an Lagerware u. v. m..

Wie im vorangehenden Text kurz erläutert, handelt es sich bei der Behandlung biologischer Oberflächen mittels kalter Plasmen um ein Verfahren, welches durch die Vermittlung reinigender sowie positiver Eigenschaften beim zeitgleichen Erhalt der Lebensfähigkeit der behandelten Substrate eine Vielzahl Einsatzmöglichkeiten birgt, die so zahlreich sind, dass Sie hier nicht umfassend genannt werden können. Ein, aktuell und in den vergangenen Jahren, nur gering beforschter Anwendungszweig, der durch angezeigten den Wegfall essenzieller Pestizide innerhalb der EU künftig an Relevanz stark zunehmen wird, ist die plasmabasierte Bekämpfung von Schadinsekten. Im Nachfolgenden Kapitel wird deshalb die aktuelle Veröffentlichungslage im Bereich der Insektenbekämpfung dargestellt. Über die hier gezeigten und diskutierten Publikationen hinaus existierten zum Recherchezeitpunkt (03/2020) keine weiteren

wissenschaftlichen Veröffentlichungen, welche sich explizit mit der Einsetzbarkeit von Plasmen zur Schädlingsbekämpfung befassen haben.

Plasmen in der Schädlingsbekämpfung

Ein, verglichen mit anderen *Plasma-Life-Science-Anwendungen* nur gering beforschtes Anwendungsfeld technischer Plasmen befasst sich mit deren Einsatz zur Bekämpfung von Schadinsekten. Wie bereits dargestellt, gewinnt dieses Anwendungsgebiet aktuell stark an Bedeutung. Begünstigt durch ein immer breiteres Bewusstsein der Bevölkerung gegenüber der Bedeutung eines überbordenden Pestizideinsatzes sowie dessen mögliche gesundheitliche Folgen, wurden in der jüngeren Vergangenheit, z.B. in der EU, immer wieder Mittel bzw. Wirkstoffklassen mit Verboten und zugehörigen Übergangsfristen belegt [76, 77]. Durch diese stetig steigenden Zulassungsbeschränkungen klassischer Schädlingsbekämpfungsmittel, auch im Bereich der Lagerung von Schüttgütern (Saatgut- u. Lebensmittelbeizen), erhöht sich der Druck auf die produzierenden Betriebe stetig und eröffnet so den Weg zur Ausgestaltung und Entwicklung alternativer Schädlingsbekämpfungsmethoden. Die bei der Durchführung der jeweiligen Versuche zum Einsatz gekommenen Parametersätze sind im Anschluss in der Tabelle 3.1 zusammenfassend dargestellt.

Der Bereich der *plasmagestützten* Schädlingsbekämpfung wurde als potentielles Anwendungsgebiet bereits vor ca. 20 Jahren erkannt. Es wurde gezeigt, dass Plasmen eine Alternative bzw. eine Ergänzung zu klassischen Schädlingsbekämpfungsmethoden darstellen können. Um die Geschichte des in Entstehung befindlichen und hier als *Plasma Based Pest Management* bezeichneten Feldes darzustellen, wird im folgenden kurz die ca. 20 Jahre zurückreichende und sehr knappe Veröffentlichungslage beleuchtet⁴.

Die Anfänge des Themenkomplexes der plasmagestützten Schädlingsbekämpfung liegen im Jahre 1997. *Morar et al.* veröffentlichen erstmals ihre Beobachtungen bezüglich des Effekts einer Koronaentladung auf unterschiedliche, parasitäre Pflanzenschädlinge (*Phorodum humuli*, Hopfenblattlaus)[1]. Unter Verwendung einer bürstenartigen Anordnung von mehr als 15.000 Nadelelektroden untersuchte man den Effekt einer Koronaentladung (25 kV; 50 Hz) auf Pflanzenschädlinge *in vitro*. Das ursprüngliche Ziel der Untersuchung war es, die Wirksamkeit von

⁴Die in Tab.: 3.1 gelisteten Veröffentlichungen wurden über die Datenbank des *ISI Web of Science* recherchiert.

Ozon als Schädlingsbekämpfungsmittel aufzuzeigen. Neben der Effektivität dieser Ozonbegasung, wurde ebenfalls der Effekt einer direkten Entladung auf die Schädlinge untersucht. Es wurden sowohl der Einfluss unterschiedlicher Spannungen sowie die Auswirkung verschiedenster Einwirkzeiten des Plasmas eruiert. Die behandelten Schädlinge wurden im Anschluss über einen Zeitraum von 72 h beobachtet, wobei Abtötungsraten von bis zu 99 % festgestellt werden konnten. Bei den präsentierten Ergebnissen zeichnete sich bereits eine verbesserte Wirkung der Direktbehandlung gegenüber einer reinen Begasung ab. Die Auswirkung des starken Oxidationsmittels Ozon wie der Entladung selbst, sowohl auf Saatgut wie auch auf potentiell befallenes Pflanzenmaterial wurde bei dieser Studie jedoch noch nicht berücksichtigt.

Eine weitere Veröffentlichung, welche sich mit der pestizidfreien Bekämpfung von Schadinsekten befasst, erschien erst wenige Jahre später [78]. *Mishenko et al.* befassten sich in ihrer Publikation mit den Vorzügen der Mikrowellentechnologie zur Schädlingsbekämpfung. Hierbei setzten sie Spannungen von $< 12 \text{ kV}$, und Frequenzen in einem Bereich von 10 MHz bis 2,450 GHz ein. Zudem wurde das zum Einsatz kommende System auf einen Druck von 5 kPa evakuiert. Das Ziel der Studie war es unterschiedliche Wellenlängen- und Leistungsbereiche bezüglich ihrer Eignung zur Abtötung von Schadinsekten in Schüttgütern durch selektives Heizen zu untersuchen.

Während der Untersuchungen zeichnete sich jedoch eine deutliche Verbesserung des Behandlungsergebnisses durch die Ausbildung eines Plasmas ab (*arcing*). *Mishenko et al.* beobachteten das Auftreten nicht intendierter Entladungsvorgänge während des Betriebs der HF-Quelle und untersuchten diese im Anschluss bezüglich ihrer Auswirkung auf die Abtötungsraten. Hierbei stellten sie bei ausreichend großer elektrischer Leistung einen augenblicklich auftretenden *Knockdown*-Effekt⁵ gefolgt vom Absterben der betroffenen Insekten innerhalb weniger Tage fest. Ferner beobachteten sie beim Auftreten hoher Leistungen und Ausbildung eines Plasmas ein Absterben der Insekten innerhalb von 3 s bis 5 s nach der Behandlung. Als erfolgversprechende Kombination der unterschiedlichen Wirkmechanismen konstatierten sie die Applikation eines HF-Feldes unter deutlicher Reduzierung des Drucks (5 kPa)

⁵Im Kontext der Schädlingsbekämpfung bezeichnet der *Knock-Down Effekt* eine rasche Wirksamkeit des zum Einsatz kommenden Mittels, welche durch eine schnelle immobilisierende Wirkung z. B. Paralyse durch Beeinträchtigung des Nervensystems begleitet wird. Ein Effekt wie er z. B. auch von einigen klassischen Pestiziden bekannt ist.

und dem expliziten Verursachen einer Gasentladung.

In den Folgejahren wurden mehrere Veröffentlichungen um das Team von Prof. Dr. Mohamed A. Bourham und Prof. Dr. R. Michael Roe mit ihren Mitarbeitern Dr. Kevin V. Donohue und Brian L. Bures bekannt, welche sich erstmals gezielt dem Einsatz kalter Atmosphärendruckplasmen zur Schädlingsbekämpfung widmeten [79–84]. Donohue und Bures untersuchten hierbei eine Vielzahl Schadinsekten hinsichtlich ihrer Suszeptibilität gegenüber dielektrisch behinderter Entladungen. Durch den Einsatz reiner Heliumatmosphären im Entladungsraum sowie späterer Beimengung geringer, prozentualer Anteile von Stick- und Sauerstoff, versuchten sie die Einflüsse reaktiver Spezies zu verifizieren. Obwohl signifikante Abtötungsraten von $> 80\%$ (abhängig von der Schädlingsart) auf idealem, nicht-biologischen Substraten erzielt werden konnten, zeigten Bures bzw. Donohue *et al.* deutlich, dass die Verwendung ihres entwickelten Plasmasystems auf natürlichen Substraten (Tabakblättern) zu deutlich niedrigeren Abtötungsraten ($< 40\%$) führte. Die Ergebnisse wurden zu variierenden Frequenzen, Leistungen und Gastemperaturen in Beziehung gesetzt. Hierbei stellte man fest, dass Frequenz und Leistung die Haupteinflussgrößen bezüglich der Abtötung von Insekten darstellen. Die bei einer Behandlung mit diesem Plasmasystem auftretenden Temperaturen haben nach weiteren Erkenntnissen der Gruppe nur einen marginalen Einfluss auf die Effizienz des Verfahrens.

Nach den sehr breit gefächerten Untersuchungen bezüglich des Schädlingsspektrums (siehe Tab.: 3.1) von Bures/Donohue *et al.*) erscheint erst sechs Jahre (2015) später eine weitere Veröffentlichung im Themenbereich der plasmagestützten Schädlingsbekämpfung.

Abd El-Aziz *et al.* widmen sich der Möglichkeit der Regulierung der Indischen Mehlmotte durch nicht thermische Plasmen [85]. Durch die Verwendung eines niederfrequent (25 Hz) arbeitenden Atmosphärendruckplasmajets (APPJ) konnte gezeigt werden, dass bei der Behandlung der Larven der Indischen Mehlmotte Abtötungsraten $> 80\%$ erzielt werden konnten. Ebenso wurde eruiert, dass eine Plasmabehandlung mit dem eingesetzten Plasmajet-System auch einen Effekt auf die überlebenden Larven bzw. deren nachfolgende Entwicklungsstadien zeigte. Nach einer Verpuppung von ca. 100 % der überlebenden Larven zeigte sich eine leicht erhöhte Puppensterblichkeit sowie eine reduzierte Schlupfrate der *Plodia interpunctella*. Die Erkenntnis, dass Plasmen auch einen Effekt in Form von

Spätfolgen auf nachfolgende Entwicklungsstadien einer Schädlingsart haben können, wurde in einer weiteren Studie veröffentlicht. Zudem zeigten *Mahmoud et al.*, unter Beteiligung von *Abd El-Aziz* [86], deutlich die Effekte einer Plasmabehandlung auf die Spermatogenese und damit auf die Fertilität der männlichen Vertreter der *Rhynchophorus ferrugineus* aus der Familie der Rüsselkäfer⁶. Die Versuche fanden unter Verwendung der identischen, wie zuvor von *Abd El-Aziz* verwendeten APPJ-Quelle (vergleiche [85]) statt.

Die jüngst veröffentlichte Publikation auf dem Gebiet der plasmagestützten Schädlingsbekämpfung, neben den in dieser Arbeit präsentierten Studien, ist eine Veröffentlichung von *Ramanan et al.* [88] aus dem Jahr 2018. Die Autoren widmeten sich der plasmagestützten Bekämpfung des *Tribolium castaneum*, der sogenannte *Rotbraune Reismehlkäfer*. Hierbei arbeiteten *Ramanan et al.* mit unterschiedlichen Entwicklungsstadien (Eier, Larven u. Adulte) des Reismehlkäfers und betrachteten die Einflüsse variierender Hochspannungspulse und Elektrodenabstände sowie Behandlungszeiten auf die Mortalitätsraten innerhalb der einzelnen Entwicklungsstadien der Insekten. Hierbei fiel, ähnlich wie zuvor bei *Abd El-Aziz et al.*, das Verbleiben der Tiere in einem nicht lebensfähigen Zwischenstadium im Übergang von Larve zu Puppe auf. In diesem blieben die Tiere nach einer zunächst scheinbar nicht erfolgreichen Plasmabehandlung (keine sofortige Abtötung) mit ihrer Entwicklung stehen; erkennbar durch das Ausbleiben eines Schlupfs gesunder Tiere.

Zur besseren Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Behandlungsansätze sind genannten Veröffentlichungen im folgenden in Tab.: 3.1 dargestellt. Hierbei wurden die wesentlichen, den Veröffentlichungen entnehmbaren Informationen zu den verwendeten elektrischen, Temperatur- und Druckparametern aufgeführt. Auch die untersuchten Insektenspezies sowie verwendete Arbeitsgase sind angegeben. Die Auflistung zeigt deutlich, wie vielfältig sowohl das bisher untersuchte Schädlingsspektrum als auch die Kombinationsmöglichkeiten der verwendeten Parametersätze zur Realisierung plasmatechnologischer Lösungsansätze ist. Darüber hinaus wird klar, wie rudimentär die Veröffentlichungslage zum Thema der „plasmagestützter Schädlingsbekämpfung“ im durch englischsprachige Veröffentlichungen abgedeckten wissenschaftlichen Umfeld ausfällt und wie groß der Raum für grund-

⁶Der sogenannte *Rote Palmrüsselkäfer* ist als einer der größten Palmenschädlinge weltweit bekannt und verursacht jährlich Schäden im zwei- bis dreistelligen Millionenbereich (US-\$), allein im mittleren Osten [87].

legende sowie ingenieurwissenschaftliche Fragestellungen zum aktuellen Zeitpunkt noch ist.

Ferner zeigen die bisher veröffentlichten Studien, dass im Rahmen der Erstellung einer Bekämpfungsstrategie genau eruiert werden muss, ob und unter welchen Rahmenbedingungen die jeweilige Lösungsvariante zielführend und sinnvoll eingesetzt werden kann. Hierbei sind vor allem Einflussfaktoren wie Materialfeuchten der Substrate (Pflanzen, Saatgüter, Mehle etc.), Korngrößen, Geometrie (Korn o. dreidimensionale Blattoberfläche) etc. relevant. Auch sind nachfolgende Einsatzgebiete des behandelten Guts (Lebensmittel oder Aussaat) maßgeblich mitbestimmend für die Auswahl der verwendeten Parametersätze, unter welchen eine Behandlung durchgeführt werden kann. So muss z.B. das Auftreten hoher Temperaturen im Substrat vor allem dann vermieden werden, wenn eine anschließende Aussaat zur Keimbildung führen soll.

Über die hier genannten Studien zum Einsatz direkt applizierter Plasmen existieren auch Behandlungsansätze, welche die mittels Plasmen erzeugten reaktiven Sauerstoffspezies (ROS⁷; zu den Einsatzmöglichkeiten und Gernerierungsmechanismen siehe z.B. [22, 23, 51, 89]) im Sinne eines *Remote-Plasmas* (Begasung bzw. Übertragung auf Flüssigkeiten wie z.B. Wasser) verwenden. Hier seien stellvertretend die Veröffentlichungen von *Ebihara et al.* [90] und *Kwon et al.* [91] genannt, welche die auch in der vorliegenden Arbeit dargestellten Ansatz (siehe Kapitel 5.3) der *Remote*-Anwendung und Übertragung insektizider Wirkung auf Flüssigkeiten untersuchen und als zielführenden Alternativansatz präsentieren. An dieser Stelle sei angemerkt, dass hohe Ozonkonzentrationen bzw. hohe Konzentrationen reaktiver Sauer- und Stickstoffspezies (RONS) und die damit einhergehenden Effekte wie z.B. Lipidperoxidation eine starke Beeinträchtigung bezüglich der Genießbarkeit etwaiger zum Verzehr gedachten Güter mit sich bringen kann. Dies gilt es vor allem dort zu vermeiden, wo Waren dem *direkten* Verzehr zugeführt werden sollen. Die Akzeptanz des Verbrauchers könnte sonst aufgrund geschmacklicher Veränderungen stark beeinträchtigt werden.

⁷Englisch: reactive oxygen species

Tabelle 3.1: Bisherige Veröffentlichungen im Bereich der plasmagestützten Schädlingsbekämpfung. Teilweise wurden in den präsentierten Publikationen unterschiedliche Entladungstypen oder Modi untersucht, was durch Mehrfachnennung in Klammern gekennzeichnet wird. Temperaturangaben, insbesondere zu T_e zu den verwendeten Plasmen sind häufig nicht gemacht worden. Zum Teil finden sich Angaben zur Gastemperatur. Das Fehlen einer Angabe wird durch das Symbol „-“ angezeigt. Die Bezeichnungen wurden wie folgt gewählt: ν = Anregungsfrequenz; U = Zündspannung; t = Behandlungszeit; P_e = aufgenommene elektrische Leistung; T_G = Temp. d. Arbeitsgases; Gas = verw. Arbeitsgas; P = Umgebungsdruck.

Nr.	Datum	Autor	Parameter	Entladungstyp	Schadinsekt
1.	1997	Morar et al.[1]	ν : 50 Hz U : 10 kV, 11,5 kV, 13 kV t : 15 min, 20 min, 25 min, 30 min P_e : - T_G : - Gas : Luft P : 100 kPa	Koronaentladung (direkt + indirekt)	<i>Phorodom humuli</i> , <i>Tetranychus urticae</i>
2.	2000	Mischenko et al.[78]	ν : 10 MHz, 47,5 MHz, 900 MHz, 2450 MHz U : 5,5 kV - 10,5 kV t : 5 s, 10 s, 20 s, 60 s P_e : 0,8 W/cm ² - 2,8 W/cm ² T_G : <52 °C Gas : Luft P : 5 kPa	keine/Streamer	<i>Sitophilus granius L.</i>
3.	2004	Bures et al.[79]	ν : 4 kHz U : (3,8 ± 0,4) kV - (5,5 ± 0,5) kV t : 5 s, 10 s, 20 s, 60 s P_e : (90 ± 5) W T_G : <52 °C Gas : Luft P : 100 kPa	DBE	<i>Myzus persicae</i> <i>Pediculus humanus h.</i> <i>Tetranychus urticae</i> <i>Franklinella fusca</i> <i>Franklinella occidentalis</i> <i>Franklinella urticae</i> <i>Planococcus citri</i> <i>Blattella germanica</i>
4.	2005	Donohue[80]	ν : 4 kHz U : 10 kV _{RMS} t : - P_e : 90 W T_G : <40 °C Gas : He + He/O ₂ P : 100 kPa	DBE	<i>Franklinella occidentalis</i> <i>Franklinella fusca</i> <i>Aedes albopictus</i> <i>Tetranychus urticae</i> <i>Blattella germanica</i>
5.	2005	Bures et al.[81]	ν : 4 kHz U : - t : 2 min P_e : (57 ± 3) mW T_G : <40 °C Gas : He + He/O ₂ P : 100 kPa	DBE	<i>Myzus persicae</i>
6.	2006	Bures et al.[82]	ν : 4 kHz U : 4 kV _{RMS} t : 10 s, 20 s, 40 s, 60 s, 90 s, 120 s t : 1 min, 2 min, 3 min, 4 min P_e : 0,8 W/cm ² - 2,8 W/cm ² T_G : <40 °C Gas : He + He/O ₂ P : 100 kPa	DBE	<i>Myzus persicae</i> <i>Pediculus humanus h.</i> <i>Planococcus citri</i>
7.	2006	Donohue et al.[83]	ν : 4 kHz U : 2,7 kV t : 5 s, 10 s, 20 s, 30 s, 30 s, 60 s, 90 s, 120 s, 180 s P_e : 85 W - 90 W T_G : (37 ± 2) °C - (50 ± 2) °C Gas : He P : 100 kPa	DBE	<i>Franklinella occidentalis</i> <i>Franklinella fusca</i> <i>Aedes albopictus</i> <i>Tetranychus urticae</i> <i>Blattella germanica</i>
8.	2008	Donohue[84]	ν : 50 Hz U : 10 kV, 11,5 kV, 13 kV t : 5 s, 10 s, 20 s, 60 s P_e : 0,8 W/cm ² - 2,8 W/cm ² T_G : <52 °C Gas : He + He/O ₂ P : 100 kPa	DBE	<i>Myzus persicae</i> <i>Pediculus humanus h.</i> <i>Tetranychus urticae</i> <i>Franklinella fusca</i> <i>Franklinella occidentalis</i> <i>Planococcus citri</i> <i>Blattella germanica</i>

Tabelle 3.1: Fortsetzung

Nr.	Datum	Autor	Parameter	Entladungstyp	Schadinsekt
9.	2014	Abd El-Aziz et al.[85]	ν : 25 Hz U : 10 kV - 12 kV Pulszahl : 1, 5, 10, 15, 20 Abstand : 11 cm, 13 cm, 15 cm P_e : - T_G : - Gas : Stickstoff P : 100 kPa	Plasmajet (Lichtbogen)	<i>Plodia interpunctella</i>
10.	2015	Mahammadi et al.[92]	ν : 13 kHz U : 10 kV t : 2 s, 5 s, 10 s, 20 s, 20 s 30 s, 45 s, 60 s, 75 s P_e : - T_G : - Gas : Luft P : 100 kPa	DBE	<i>Tribolium confusum</i> <i>Ephestia kuehniella</i>
11.	2015	Mahmoud et al.[86]	ν : 25 Hz U : 10 kV t : 2 s, 5 s, 10 s, 20 s, 20 s 30 s, 45 s, 60 s, 75 s P_e : 0,8 W/cm ² - 2,8 W/cm ² T_G : <52 °C Gas : Luft P : 100 kPa	Plasmajet (Lichtbogen)	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>
12.	2018	Ramanan et al.[88]	ν : 50 Hz U : 0,5 kV, 1 kV, 2 kV, 3 kV, 3,5 kV t : 2 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min P_e : - T_G : - Gas : ? P : 1 mbar	DBE	<i>Tribolium castaneum</i>

Basierend auf dieser Übersicht der bisher veröffentlichten Forschungsarbeiten (Tab.: 3.1) lässt sich konstatieren, dass die publizierte Datenlage zu den unterschiedlichen Anwendungsfeldern das große Anwendungspotenzial der Plasmatechnologie aufzeigt jedoch auch viele Fragen offenlässt. Ebenso wird deutlich, wie grundlegend wichtig eine umfassende Charakterisierung der Plasmen ist. Nur durch genaue Angaben bezüglich der eingekoppelten Leistung sowie einer Darstellung der im Plasma auftretenden Temperaturen wird eine Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Plasmaquellen und eine Einschätzung bezüglich auftretender Wirkmechanismen möglich. Eine direkte Vergleichbarkeit der Plasmaquellen aus Tab.: 3.1 ist ohne Temperaturangaben nahezu unmöglich. Einige Zusammenhänge werden auch im folgenden Grundlagenteil (Kapitel 4) kurz erläutert.

Die grundlegende Wirksamkeit von Plasmen gegenüber Insekten, welche zu deren Abtötung führt konnte durch Anwendung unterschiedlicher Entladungskonzepte gezeigt werden. Die zum Einsatz gebrachten Plasmen zeigten von marginaler Beeinträchtigung des Bewegungsapparats, über schwerwiegendere Knock-Down-Effekte, bis hin zur Abtötung behandelter Insekten nach unterschiedlich langen Zeiträumen ein breites Wirkspektrum. Die verantwortlichen Wirkmechanismen sowie auftretende Schadbilder bei den abgetöteten Insekten wurden hierbei jedoch

nicht berücksichtigt. Es sind jedoch Studien veröffentlicht worden, die sich mit dem Einfluss elektrischer Felder auf Insekten befassen. Diese zeigen welchen Einfluss bereits elektrische Felder geringer Feldstärke auf das Verhalten von Insekten haben können. So zeigen *Kaplan* und *Clarke* eindrücklich das hohe Maß sensorischer Empfindlichkeit von Bienen und Hummeln gegenüber statischen Felder und wie diese zur Orientierung oder Kommunikation genutzt werden [93, 94]. Untersuchungen aus dem Bereich der Elektropenetographie zeigen darüber hinaus, wie empfindlich Insekten bereits bei der Applikation kleinster Spannungsänderungen und sehr geringer fließender Ströme reagieren [95]. Der Versuch, die nach einer Plasmabehandlung von Insekten auftretenden Verhaltensweisen und Schadbilder mit grundlegenden Untersuchungen zu Wirkmechanismen zu verbinden, ist bisher nicht unternommen worden und stellt eine wichtige Aufgabe künftiger Untersuchungen dar. Die in dieser Arbeit präsentierten, eigenen Untersuchungen sollen aber einen ersten Schritt in diese Richtung unternehmen. So wird im Kapitel 5 neben Untersuchungen zur sicheren Einsetzbarkeit und Wirksamkeit eines Geräts zur Abtötung von Kopfläusen auch der Effekt plasmabehandelter Flüssigkeiten, sowie der Einfluss eines natürlichen Matrixmaterials auf die Effizienz einer Plasmabehandlung untersucht. Darüber hinaus werden erste Anhaltspunkte zu möglichen Wirkmechanismen bei der Abtötung von Schadinsekten durch ein kaltes Atmosphärendruckplasma präsentiert.

4 Grundlagen

Wie bereits in Kapitel 3 einleitend erwähnt, geht die Bezeichnung der Plasmen in seiner heutigen Verwendung zur Bezeichnung physikalischer Gasentladungsphänomene auf den US-amerikanischen Chemiker und Physiker *Irving Langmuir* zurück, welcher diesen Begriff um 1927 erstmals einführte. *Langmuir* zielte auf eine klare Abgrenzung zwischen den zentralen, weit von umgebenden Wänden entfernten Gasentladungsbereichen sowie den „wandnahen“ Bereichen ab. Die Bereiche teilten sich zu seiner Zeit so uneindeutige und pauschale Bezeichnungen, wie „*auroras*“ bzw. „*haloes*“ [2]. *Langmuir* erkannte die Komposition von Gasen im Plasmazustand trotz ihres insgesamt neutral scheinenden Gesamtbildes als ein Vielteilchensystem, also ein Gemisch von positiv (Ionen) und negativ (Elektronen) geladenen Teilchen. Er konnte in diesen Teilchengemischen, u.a. basierend auf Vorarbeiten von *Dittmer* [96] und *Penning* [97], die Ladungstrennung durch ihre elektrostatischen Oszillationsfrequenzen (heute Plasmafrequenz) [3] nachweisen.

Hierbei verglich er laut seinem Mitarbeiter *Harold M. Mott-Smith*, den von ihm so genannten „Gleichgewichtsteil“ (Gasvolumen) der Entladungen mit einem Vielteilchensystem, welches unterschiedliche Partikelarten in sich vereint, ähnlich wie ein Blutplasma weiße und rote Blutkörperchen sowie „Bazillen“ mit sich trägt [2]. Die Vereinheitlichung unter der Dachbezeichnung „*Plasma*“ aus dem griechischen Wort für *Gebilde* (Πλάσμα) war geboren.

Häufig, aber stetig auch kontroverser Betrachtungen ausgesetzt [98], werden Plasmen hierbei als „vierter (nicht-klassischer) Aggregatzustand der Materie“ bezeichnet.

Ebenfalls vielfach an anderer Stelle erläutert unterscheiden sich Plasmen hierbei von regulären, inerten Gasen durch das Auftreten besonders hervorgehobener Eigenschaften, aus welchen ihre Bedeutung erwächst.

Besonders nennenswerte Eigenschaften von Plasmen sind hierbei:

- **Beeinflussbarkeit:** Wechselwirkung seiner freien Ladungsträger mit elektromagnetischen Feldern
- **Equilibrierung:** Unterscheidbarkeit thermodynamischer Gleichgewichts/Nicht-Gleichgewichtszustände zwischen den unterschiedlichen Teilchensystemen⁸ (Elektronen- T_e , Ionen- T_i , Neutralteilchen-/Gastemperatur T_n bzw. T_g)
- **Strahlungsemission:** strahlungsbehaftete Relaxation angeregter Teilchen möglich
- **Energietransport:** Erzeugung einer relevanten Leitfähigkeit eines vormals inerten Arbeitsgases o. Gasgemischs
- **Reaktivität:** Reaktionen geladener Teilchen mit Materialien in den Randbereich eines Plasmas (*sheath*/Oberflächenchemie) und im Gasvolumen selbst (*bulk*/Plasmachemie).

Durch diese deutliche Differenzierbarkeit spezifischer Eigenschaften sind Plasmen in unterschiedlicher Weise kategorisierbar. So lassen sich zum Beispiel unterschiedliche Druck- (Hochdruck, Atmosphärendruck, Niederdruck) oder Temperaturregime (heiße/kalte Plasmen) bzw. Temperaturverteilungen der beteiligten Teilchensysteme finden (thermisches Gleichgewicht/Nicht-Gleichgewicht), unter welchen die Entladungskonzepte zusammengefasst werden können.

Die zu behandelnden Oberflächen und Proben aus dem Bio-Life-Sciencebereich, welche auch für die hier vorliegende Arbeit eine hohe Relevanz haben, stellen besondere Anforderungen an die zum Einsatz kommenden Quellen, bzw. Bedingungen an die Eigenschaften der durch Sie erzeugten Plasmen. Aus der besonderen Empfindlichkeit biologischer Proben gegenüber äußerer Einflüsse steht beim Einsatz von Plasmen in diesem Bereich nur ein vergleichsweise schmaler Parameterkorridor zur Verfügung. Einschränkende Parameter für die Anwendung der Plasmatechnologie im Bio/Life-Science-Bereich sind hierbei vor allem der Arbeitsdruck sowie die auftretenden Temperaturen.

Das Arbeiten in einem Normaldruckbereich von ca. 100,000 Pa ist wünschenswert,

⁸gemeint sind Teilchensysteme resultierend aus unterschiedlicher Ladung und/oder Masse

um Schäden an empfindlichen Proben, wie sie beim Arbeiten im Vakuum auftreten könnten, zu vermeiden. Darüber hinaus ist durch Verfahren unter Atmosphärendruck eine schnelle Bearbeitung großer Mengen möglich, was die Energie- und Preiseffizienz verbessern kann. Zudem stellt die geringe, maximal erlaubte Kerntemperatur behandelter Saatgüter, welche einen Temperaturwert von ca. 30 °C–40 °C nicht überschreiten sollte, eine besondere Herausforderung an moderne Verfahren. Die Realisierung einer kalten Behandlung ist insbesondere deshalb wichtig, weil es andernfalls zur Denaturierung von Proteinen der Saatgutembryonen kommen kann, wodurch eine der Plasmabehandlung nachgelagerte Keimung unmöglich würde.

Um den aus biologischen Substraten erwachsenden Herausforderungen zu begegnen, ist der Einsatz unterschiedlicher Quellenkonzepte aus dem Bereich der kADP vielversprechend. In der Vergangenheit zeigte sich die Verwendung insbesondere jener Plasmaquellen als besonders erfolgversprechend, welche sich einem der nachfolgend dargestellten Entladungskonzepte bedienen⁹.

Entladungskonzepte zur Eignung im Bio-Life-Sciencebereich

- dielektrisch behinderte Entladung [[18, 99–101]]
 - koplanare Entladung [[102–104]]
 - Gleitentladung [[5, 105]]
- Koronaentladung [[5, 99–101]]
- Glimmentladung [[99, 106–108]]
- Mikroentladung [[99, 109–111]]
- elektrodenlose RF-Entladung [[99, 112–114]]

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich im Schwerpunkt darauf Anwendungspotenziale kalter Atmosphärendruckplasmen im Bereich der Schädlingsbekämpfung aufzuzeigen.

Um hinreichend nachvollziehbar zu sein, sollten Experimente neben der Darstellung der erzeugten Daten zur Effektivität einer Plasmaquelle, stets auch von einem

⁹Den unterschiedlichen Entladungskonzepten wurden Literaturquellen zugeordnet, welche sich diesen exemplarisch und in hervorgehobener Weise widmen. Diese Literaturquellen können einen geeigneten Einstieg in die Literaturrecherche des jeweiligen Entladungskonzepts bieten.

gemessenen Datenensemble charakteristischer Einflussgrößen flankiert werden. Das bedeutet, dass die Charakterisierung verwendeter Plasmaquellen so umfassend sein sollte, dass Ergebnisse aus unterschiedlichen Studien vergleichbar werden. Häufig wurde bei der bisherigen Veröffentlichung etwaiger Erkenntnisse im *PBPM*-Bereich ausschließlich auf Angabe verwendeter Input-Parameter zurückgegriffen. Wiederholt benannte Parameter sind dann Zündspannung, Anregungsfrequenz, Behandlungsabstände, Behandlungszeiten und -Intervalle sowie Angaben zum verwendeten Arbeitsgas (vgl. Tab. 3.1). Für nachfolgende Studien durch andere Forschungsgruppen ist eine Reproduktion der Ergebnisse, häufig in Ermangelung einer identischen Plasmaquelle, nicht ohne Weiteres umsetzbar.

Erst durch eine umfassendere Charakterisierung der Plasmen, durch z.B. spektroskopische Vermessung, ist gewährleistet, dass sich Quellen und Behandlungsansätze unterschiedlicher Gruppen vergleichen lassen. Relevante Messgrößen sind dann mitunter von einander abweichenden Temperaturen der unterschiedlichen Teilsysteme (T_e, T_i, T_g). Diese können zum Teil wiederum, wie bei den Temperaturen der schweren Gasteilchen, in die Komponenten T_{rot}, T_{vib} zerlegt werden. Erst wenn die Temperaturen der verwendeten Plasmen bekannt sind, ist die Möglichkeit gegeben mittels geeigneter Simulationsmethoden systemrelevante Größen zu ermitteln. So kann man über einen Vergleich simulierter Werte mit Messwerten z.B. zur Ermittlung von T_{rot} oder mittels numerischer Berechnungen z.B. über die Verwendung eines geeigneten Boltzmann-Solver zu Abschätzungen für reduzierte Feldstärken bzw. Elektronenenergieverteilungsfunktionen und somit T_e gelangen. Erst so steht ein charakteristisches Datenensemble zur Verfügung, welches das verwendete System umfassend beschreibt. Anhand dieser Daten lassen sich ferner über Simulationen inhärente Prozesse zur Erzeugung bestimmter Spezies, Feldverteilungen etc. im Innern des Aufbaus abschätzen u. ggf. optimieren. Im weiteren Verlauf dieses Kapitels sollen einige grundlegende Annahmen erläutert werden, welche verdeutlichen, warum bei der Bestimmung der Temperaturen zum Einsatz kommender Plasmen die Ermittlung einer mittleren Gastemperatur nicht immer ausreichend ist.

Im Folgenden werden deshalb kurz einige wichtige, grundlegende Basisparameter und Zusammenhänge erläutert, die einem besseren Verständnis des Themenkomplexes Plasma sowie die Notwendigkeit bestimmter Angaben hervorheben sollen.

4.1 Grundlegende Plasmaparameter

Plasmen, bestehend aus einer Ansammlung von Atomen, Molekülen, Ionen sowie Elektronen werden bezüglich der ihnen inhärenten physikalischen und chemischen Abläufe zumeist statistisch betrachtet. Das Vielteilchen-System Plasma zeichnet sich hierbei zunächst trotz des Vorhandenseins positiv wie negativ geladener Teilchen durch die elektrische Neutralität des Gesamtsystems aus. Die Gesamtzahl der positiv geladenen Teilchen (Ionen N_i) ist i.d.R. stets identisch zur Gesamtzahl der negativ geladenen Teilchen (Elektronen N_e) wobei die Ionen die Ladung Z_i tragen. Es gilt also die Näherung

$$\frac{n_e - Z_i n_i}{n_e} \ll 1. \quad (4.1.1)$$

Trotz der generell gültigen Annahme unterscheidbarer, elektrischer Ladungen einiger seiner Komponenten lässt sich zeigen, dass die Ladungsneutralität des Plasmas als Ganzem auch bei der Betrachtung sehr geringer Volumina gültig ist. Hieraus resultiert die Bezeichnung der Plasmen als quasineutrale Vielteilchensysteme. Die Ursache des Vorhandenseins eines solchen neutral scheinenden Systems wird im folgenden kurz erläutert.

Quasineutralität und die Debyelänge

Die übliche Ladungsträgerdichte von Plasmen mit praktischer Bedeutung liegt in der Größenordnung von $1 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-3} - 1 \cdot 10^{18} \text{ cm}^{-3}$. Der Ionisationsgrad vieler technisch zum Einsatz kommender Plasmen liegt i.d.R. in einem Bereich von $1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4}$. Ionisationsgrade von 1 werden zumeist nur bei der Erzeugung heißer Fusionsplasmen erzielt. In diesem Fall spricht man von sogenannten *vollständig ionisierten Plasmen* (siehe auch [99, 115]). Die hierbei theoretisch möglichen elektrischen Felder können aufgrund der extremen Teilchenzahlen somit sehr groß werden. Ausgehend von einer homogenen Verteilung der unterschiedlichen Ladungsträger N_i (einfach geladen) und N_e über ein Plasmavolumen von nur wenigen Millimetern kann gezeigt werden, dass selbst zur Aufrechterhaltung eines Ladungsunterschieds von nur wenigen Prozent außergewöhnlich hohe Potenziale in der Größenordnung einiger Millionen Volt realisiert und aufrecht erhalten werden müssten. Veranschaulichende Beispielrechnungen hierzu finden sich unter anderem in A.P. Thorne [116]

¹⁰, *D.A. Frank-Kamenetskii* [117] u.v.m..

Der Ansatz, derartige Potenzialunterschiede innerhalb eines Gases dauerhaft aufrecht erhalten zu wollen, wird schon aufgrund der Annahme frei beweglicher Teilchen, welche stets das Bestreben haben ein derartigen Potenzialunterschied auszugleichen, negiert. Aus diesem theoretischen, extremen Wert des Feldes, für dessen Erzeugung darüber hinaus ein enormer Energieaufwand nötig wäre, wird ersichtlich, dass die tatsächliche Ladungsverschiebung, wie sie z.B. von einem realen, externen elektrischen Feld verursacht wird, nur sehr klein sein kann. Gebräuchliche Spannungswerte einer DBE liegen im Bereich einiger 10 kV. Somit lassen sich Abmessungen real auftretender Ladungstrennungen im Bereich weniger *Nanometer* errechnen (Beispielrechnungen siehe ebenfalls [99, 115–118].)

Erst bei Unterschreiten dieser, als Debyelänge bezeichneten, spezifischen Betrachtungsgrenze des Systems, typische Werte des Debyeradius liegen bei $n_e \approx 10^{20} - 10^{25}$ und $T_e \approx 1 \text{ eV} - 3 \text{ eV}$ in einem Bereich von ca. $1 \text{ nm} - 1 \text{ }\mu\text{m}$ [115, 116], innerhalb welcher ein Ungleichgewicht der Potenziale in der Größenordnung der thermischen Energie ¹¹ liegt, beginnen Unterschiede in den lokalen Ladungsträgerdichten eine Rolle zu spielen.

Diese spezifischen räumlichen und zeitlichen Skalen eines Plasmas hängen direkt vom Druck und damit der Teilchenzahl sowie der Temperatur eines betrachteten Systems ab. Wie bereits erwähnt, verhalten sich Plasmen von außen betrachtet trotz der auftretenden Ladungstrennung elektrisch neutral. Hierbei sind die zwischen den geladenen Partikeln auftretenden elektrostatischen Kräfte für ihre Interaktion sowie ihre kollektive Beeinflussbarkeit durch extern angelegte Felder verantwortlich. Die so auftretenden kollektiven Effekte unterscheiden die Eigenschaften eines Plasmas maßgeblich von denen klassischer Gase.

Die ladungsbehafteten Eigenschaften eines Plasmas, bzw. die individuellen Wechselwirkungen zwischen den Teilchen, werden erst bei Unterschreiten der sogenannten Debyelänge λ_D ersichtlich. Die Beschreibung der heute als Debyelänge, genauer der Debye-Hückel-Länge, bzw. des Debyeradius bezeichneten Größe wurde erstmals von *Peter Debye* und *Erich Hückel* eingeführt, als diese sich mit dem Phänomen der Gefrierpunktserniedrigung bzw. dem Verhalten flüssiger Elektrolyte befassten [119]. Diese allgemein wichtige Kenngröße der Plasmen setzt die Interaktion der

¹⁰Kapitel 11, Seite 342

¹¹die mittlere thermische Energie der Elektronen T_e liegt i.d.R. bei wenigen eV; $1 \text{ eV} \approx 11\,600 \text{ K}$ [115]

beteiligten Teilchen über deren Temperaturen (Elektronentemperatur T_e sowie Ionentemperatur T_i) und der Elektronendichte (N_e) gemäß der nachfolgenden Gleichung 4.1.2 in Beziehung¹²:

$$\lambda_{De,i} = \left(\frac{\epsilon_0 k_b T}{2 N_{e,i} Z_{e,i}^2 e^2} \right)^{\frac{1}{2}} . \quad (4.1.2)$$

Diese ergibt sich im thermischen Gleichgewicht dann jeweils für die unterschiedlichen Teilchen mit den Indizes e für die den Elektronen, bzw. i für die den Ionen zugehörigen Größen. Z stellt hierbei die aus dem Ionisationsgrad resultierende Ladungszahl und m die Masse des jeweiligen Teilchens dar. Bei Betrachtung transienter Plasmen bzw. schnell auftretender Störgrößen können die Ionen einer resultierenden Ladungsänderung nicht ausreichend schnell folgen um etwaige Ladungsunterschiede auszugleichen. In diesem Fall kann eine aktive Abschirmung ausschließlich durch die deutlich leichteren Elektronen ($m_n/m_e \approx 1800$) erfolgen. Somit erhöht sich der in Gleichung 4.1.2 stehende Term innerhalb der Klammern um den Faktor 2 [116]. Die insgesamt wirkende Debyelänge setzt sich aber in der Regel wie folgt aus der Elektronen-Debyelänge λ_e sowie der Ionen-Debyelänge λ_i zusammen:

$$\lambda_D^{-2} = \lambda_{De}^{-2} + \lambda_{Di}^{-2} \quad (4.1.3)$$

$$= \frac{n_e e^2}{\epsilon_0} \left(\frac{1}{k_b T_e} + \frac{1}{k_b T_i} \right) . \quad (4.1.4)$$

Bei Betrachtungen im Raum spricht man auch vom Debyeradius. Hierbei stellt λ ein Maß für den Abstand dar, über welchen die durch die im Inneren einer Debyesphäre vorhandenen Ladungen verursachte Potentialdifferenz auf das $1/e$ -fache abfällt. Gelegentlich wird λ_D auch als Debyeabschirmlänge bezeichnet. Diese Abschirmlänge liegt in der gleichen Größenordnung wie die zuvor genannte Debyelänge und findet bei der Betrachtung der möglichen Eindringtiefe eines externen Feldes in das Plasmavolumen Anwendung. Hierbei kann die Debyelänge dann als Maß für die Größe der Randschicht (*sheath thickness*) betrachtet werden.

Das Konzept der Randschichten kommt bei technischen Plasmen zum Tragen, welche im Vergleich zu natürlichen Plasmen nur innerhalb fester räumlicher Dimensionen, resultierend aus den geometrischen Abmessungen der Reaktions- bzw. Elektrodenräume, erzeugt werden können. Die innerhalb des Plasmavolumens als

¹²In Anlehnung an [116]

frei zu betrachten Ladungsträger können in diesem Randbereich mit den Oberflächen der Elektrodenräume wechselwirken. Dies macht sich vor allem in Form erhöhter Rekombinationsraten der Elektronen mit den Wänden des Reaktionsraumes bemerkbar und führt so zur Ausbildung von Randzonen negativen Potentials mit einer vorgelagerten positiven Raumladungszone, *sheath* genannt. Hierdurch ist die Quasineutralität in den Randbereichen gestört. Das so aus den negativen Oberflächenladungen resultierende \vec{E} -Feld führt dann wiederum zu einer Beschleunigung der positiven Ionen in Richtung Wand [115]. Hierbei handelt es sich um einen dynamischen Gleichgewichtsprozess.

Beim Auftreten der oben genannten transienten Prozesse können die Elektronen einem von außen aufgeprägtem elektrischen Feld nur bis zu einer bestimmten spezifischen Frequenz folgen. Diese Cut-Off-Frequenz berechnet sich über die mittlere Geschwindigkeit die ein Teilchen zur Überbrückung einer Distanz $x = \lambda_D$ benötigt durch:

$$t^{-1} = \frac{\bar{v}}{\lambda_D} \Rightarrow \omega_0 = \sqrt{\frac{ne^2}{\epsilon_0 m}} \quad (4.1.5)$$

zu

$$\omega_{0e,i}^2 = \frac{nZ_{e,i}^2 e^2}{\epsilon_0 m_{e,i}} \quad (4.1.6)$$

bzw. für die Elektronen zu

$$\omega_p = \sqrt{\left(\frac{n_e e^2}{\epsilon_0 m_e} \right)} . \quad (4.1.7)$$

Die spezifische Frequenz ω_p wird auch als Plasmafrequenz bezeichnet.

Wie in Abbildung 4.4 zu sehen können die Parameter der Debyelänge sowie der Plasmafrequenz zur relativen Einordnung unterschiedlicher Plasmen herangezogen werden.

Zur weiteren Klassifizierung von Plasmen wird unter anderem auch der sogenannte Plasmaparameter N_D herangezogen. Dieser ergibt sich aus der Berechnung der Teilchenzahl, die innerhalb eines Kugelvolumens mit dem Radius λ_D zu finden ist:

$$\mathbf{N_D} = n \cdot \frac{4}{3} \pi \cdot \lambda_D^3 , \quad (4.1.8)$$

wobei der Debyeradius, wie zuvor gezeigt, eine Abhängigkeit vom Ionisationsgrad, der Teilchendichte und Temperatur ist ($\lambda_D = f_{Z;N;T}$) ist. Somit verhält sich der Plasmaparameter N_D wie folgt.

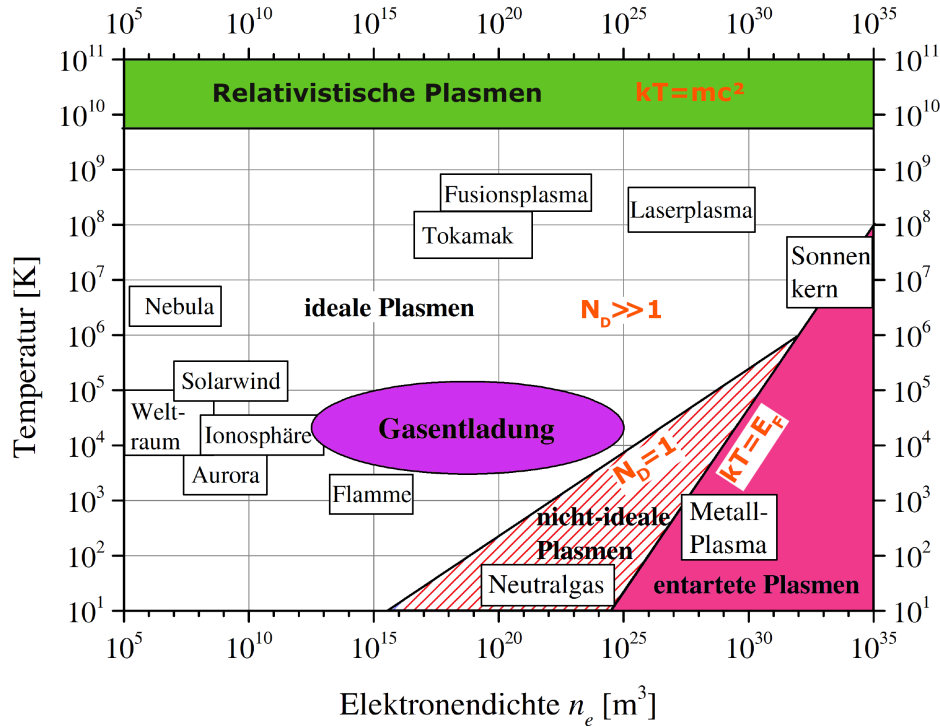


Abbildung 4.1: Klassifizierung unterschiedlicher in Natur und Technik auftretender Plasmen eingeordnet nach Teilchentemperaturen und Elektronendichten (in Anlehnung an [120])

Plasmen mit einem $N_D \gg 1$, weisen eine hohe Teilchendichte innerhalb eines Kugelvolumens mit dem Radius λ_D auf und werden als ideale Plasmen bezeichnet. Ideale Plasmen gehen dann in nicht-ideale Plasmen über, wenn eine Angleichung des *Plasmaparameters* auf $N_D = 1$ stattfindet, d.h. für ausreichend niedrige Dichten bzw. hohe Temperaturen. Als sogenannte entartete Materie (oder degenerierte Materie) bezeichnet man Materie, welche sich in einem Zustand befindet, in dem quantenmechanische Effekte dominieren, ihr Verhalten also vom dem der klassischen Physik abweicht. Eine Einordnung gemäß der Größe des Plasmavolumens ist beispielhaft in Abb.: 4.1 dargestellt. Ähnliches gilt zum Beispiel auch für das unter bestimmten Bedingungen als frei zu betrachtende Elektronengas von Metallen.

4.2 Zur Erzeugung von Gasentladungen

Die klassische Erzeugung einer Gasentladungen erfolgt mittels metallener Elektroden. Diese werden verwendet, um ein elektrisches Feld in ein Gasvolumen einzubringen. Durch ein so angelegtes elektrisches Feld werden im zwischen den

Elektroden befindlichen Entladungsraum, stets vorhandene, freie Ladungsträger (siehe unten) beschleunigt. Diese können mit weiteren vorhandenen, schwereren Gasteilchen wechselwirken und zur Erzeugung weiterer Ladungsträger beitragen. Das Gas wird in den Plasmazustand überführt.

Die grundlegenden Vorgänge in einer Gasentladung sowie ihre jeweilig zugehörigen und spezifischen Strom-Spannungs-Charakteristika, beginnend mit einer sogenannten Dunkelentladung, über das folgende Auftreten einer Glimmentladung bis hin zur Ausbildung eines Lichtbogens, sind vielfach beschrieben worden (siehe z.B. [121]).

Der Ablauf der Ladungsträgererzeugung bis zum Erzielen einer sich selbst aufrechterhaltenen Gasentladung sowie der Übergang zwischen den unterschiedlichen Entladungsregimen fußt hierbei auf der Etablierung der drei sogenannten Townsendkoeffizienten α , β und γ ¹³. Man spricht von sog. selbsterhaltenden Entladungen, wenn der auftretende Potentialgradient so groß wird, dass die Beschleunigung freier Elektronen bei Kollision mit neutralen Atomen und Molekülen zu deren Ionisation führt.

Aus den Übergängen der unterschiedlichen Entladungsregimes, wie in Abb.: 4.2 gezeigt, wird deutlich, welchen Einfluss ein zunehmend stärker werdendes elektrisches Feld auf ein anfänglich neutrales Gas ausübt. Einzelne, in jedem Gas stets vorhandene freie Elektronen, welche durch kosmische Strahlung (Gamma- u. Röntgenstrahlung führen zur Photoionisation) sorgen bei Anlegen eines nur geringen elektrischen Feldes für das Auftreten einer sogenannten unselbstständigen Entladung, d.h. die Generierung neuer freier Ladungsträger überschreitet einem bestimmten Schwellwert nicht. Ohne dieses Feld würden die freien Ladungsträger ausschließlich ungerichtete, thermische Bewegungen ausführen. Die hierbei auftretenden Kollisionen führen in aller Regel nicht zur Generierung weiterer freier Ladungsträger, da die kinetische Energie der Teilchen (im Mittel) zumeist geringer ist, als die zur Ladungsträgergenerierung notwendige Ionisierungsenergie. Der Fortgang dieses Mechanismus führt bei Anlegen und stetiger Erhöhung des elektrischen Feldes dann sukzessive zur Generierung weiterer sogenannter sekundärer Ladungsträger. Bei der Generierung dieser neuen Ladungsträger entstehen, neben deutlich langsameren und weniger beweglichen positiven Ionen, immer wieder

¹³Herleitung der Townsendkoeffizienten (T.K.) ist in [121–123] zu finden. α , 1. T.K.: Wahrscheinlichkeit der Ladungsträgergenerierung durch Stoß Ladung-Ladung; β , 2. T.K.: Wahrschl. Lad.-Gen. durch Stoß Ladung-Neutralteilchen (i.d.R. $\beta \ll \alpha$); γ , 3. T.K.: Maßzahl generierter Elektronen/Ionen (Materialkonstante).

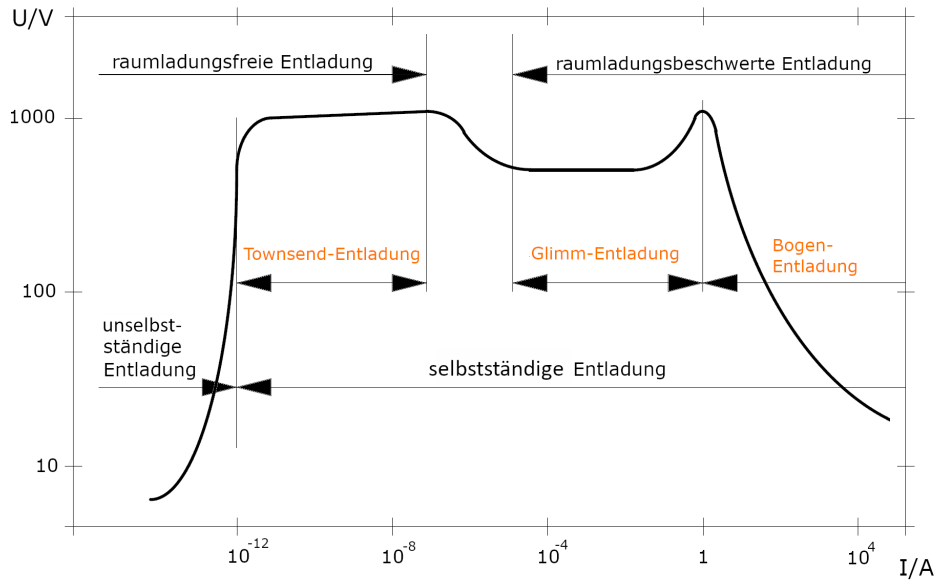


Abbildung 4.2: Schematische Darstellung auftretender Entladungsregime (orange) sowie ihre Einteilung in raumladungsfreie sowie raumladungsbeschwerte Entladung, hier in doppelt logarithmischer Darstellung (in Anlehnung an [121])

auch Lichtquanten durch das Auftreten von Rekombinationsvorgängen der zuvor erzeugten Sekundärladungsträger. Diese Photonen können ihrerseits freie Elektronen generieren. Die simultan ablaufenden Prozesse führen bei ausreichend hohem elektrischen Feld dazu, dass die Ladungsträgergesamtzahl bei der Bewegung dieser beschleunigten freien Ladungsträger von der Anode zur Kathode lawinenartig ansteigt (siehe auch [120, 121]).

Diese „Elektronenlawinen“ erfüllen unter bestimmten Voraussetzungen, deren mathematische Formulierung durch die Definition der oben genannten Townsendschen Ionisierungskoeffizienten α , β und γ geschieht, die sogenannte Zündbedingung, welche unter Verwendung der Koeffizienten eine notwendige Mindestzahl von Elektronen festlegt, die mindestens vorhanden sein muss, um einen leitfähigen Kanal zwischen den zwei Elektroden zu etablieren.

Um einen einmal entstandenen Stromfluss innerhalb des Plasmas dauerhaft aufrecht zu halten, müssen dem Plasma weitere Ladungsträger von Außen zugeführt werden. Die Polarität der angelegten Spannung zur Aufrechterhaltung eines Entladungsstroms ist hierbei zunächst zweitrangig und kann z.B. auch eine Gleichspannung sein. Die Modellvorstellung dieses Vorgangs beruht auf der gleichmäßigen Bewegung von negativ geladenen Elektronen zur Anode und positiv geladener Ionen,

welche sich Richtung Kathode bewegen. Eine präzise und umfassende Beschreibung dieser Vorgänge, sowie die mathematische Beschreibung der Zündbedingung über die Townsend-Koeffizienten wird z.B. in [121] gegeben. Der Mechanismus zur Ladungsträgererzeugung durch Kollision führt also zum Auftreten der sogenannten selbstständigen Entladungen. Hierbei sind vor allem die raumladungsbeschwerten Entladungen (siehe 4.2) als die tatsächlich technisch Relevanten zu bezeichnen, da nur hier eine relevante Wechselwirkung der Plasmen mit ihrer Umgebung (Substrate bzw. eingebrachte Gase etc.) stattfindet. Die so gebildeten Plasmen, wie z.B. die Bogenentladung werden aufgrund des thermischen Gleichgewichts, in welchem sich die unterschiedlichen Teilchen (Neutralteilchen, Ionen, Elektronen) des Plasmas befinden, als thermische oder heiße Plasmen bezeichnet¹⁴.

Ebenso wie sich der Druck eines Gases aus Partialdrücken seiner Komponenten zusammensetzt, setzt sich die Temperatur des Vielteilchensystems Plasma aus den durchschnittlichen Energien seiner Teilchen zusammen. Diese ergeben sich wiederum aus der Summe der Energien ihrer jeweiligen Freiheitsgrade.

Die Temperaturkomponenten eines Teilchenensembles werden äquivalent mit

- T_{trans} Temperatur der translatorischen Freiheitsgrade der Moleküle
- T_{rot} Temperatur der rotatorischen Freiheitsgrade der Moleküle
- T_{vib} Temperatur der vibratorischen Freiheitsgrade der Moleküle
- T_e Temperatur der Elektronen

bezeichnet. Diese Temperaturen werden i.d.R. in der Einheit *Kelvin* angegeben, wobei sich für T_e die Angabe in Elektronenvolt (eV^{15}) etabliert hat.

4.3 Statistische Beschreibung von Plasmen

Die Plasmen, welche stark unterschiedliche Temperaturen in den Freiheitsgraden ihrer Komponenten aufweisen $T_e > T_i \geq T_{\text{gas}}$, werden als sog. nicht-thermische, Nicht-Gleichgewichts- oder kalte Plasmen bezeichnet. Diese bieten durch geringe

¹⁴Bei heißen Plasmen gilt: $T_e \approx T_i \approx T_{\text{gas}}$; T_e ist die Elektronentemperatur u. T_i die Temperatur der ionisierten schweren Gasteilchen; T_{gas} steht hierbei allgemein für die mittlere Temperatur der schweren Gasteilchen, wobei aufgrund einer schnellen Rotations-Translations-Relaxation $T_{\text{gas}} \equiv T_{\text{rot}}$ angenommen wird[124]

¹⁵1 eV = $1,60218 \cdot 10^{-19}$ J

Gastemperaturen die Möglichkeit der Behandlung biologischer Proben. Aus den vergleichsweise hohen Elektronentemperaturen erwächst dabei, durch die Möglichkeit der Ionisation und Dissoziation von Gasteilchen sowie Teilchen eines mit den Plasmen in Kontakt kommenden Substrats, deren Reaktivität.

Sucht man nach einer etablierten Einordnung technischer Plasmen, welche sich an der Anwendbarkeit thermodynamischer Modellvorstellungen zur physikalischen Beschreibung der Plasmen orientiert, stößt man auf die folgende Kategorisierung:

- **vollständiges thermodynamisches Gleichgewicht** der Gaskomponenten
- **lokales thermodynamischen Gleichgewicht** der Gaskomponenten
- thermodynamisches **Nicht-Gleichgewicht** der Gaskomponenten.

Diese Unterscheidung der thermischen und nicht-thermischen Plasmen berücksichtigt die Abhängigkeit der unterschiedlichen Temperaturen vom Druck des Arbeitsgases und deren Angleichung bei Erreichen des Atmosphärendrucks von 0,1 MPa (siehe Abb.: 4.3).

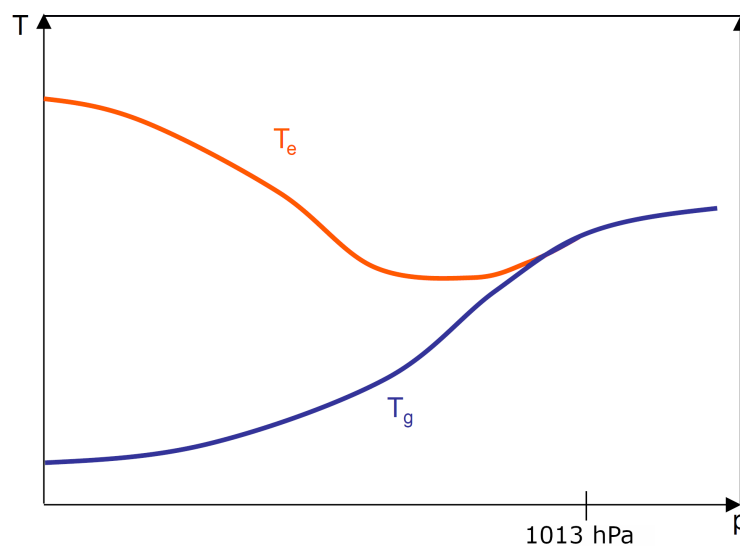


Abbildung 4.3: Prinzipskizze zur Darstellung des Verhaltens der Temperaturen T_e und T_G am Beispiel einer Bogenentladung in Abhängigkeit vom Druck (in Anlehnung an [125])

Um die Wechselwirkungen unterschiedlicher Teilchen in einem Plasma vorherzusagen, werden gemessene Datenensembles simulierten Ergebnissen gegenübergestellt.

Im Falle der physikalischen Plasmen werden hierzu den unterschiedlichen messtechnischen Methoden (häufig spektroskopische) mathematische Modelle zur Seite gestellt, welche unterschiedlichen simulativen Ansätzen zugänglich machen. Wie im Graph 4.4 beispielhaft dargestellt ermöglichen es solche Modelle dann die unterschiedlichen verwendeten Parameter zur Erzeugung von Plasmen zueinander in Beziehung zu setzen und deren Verhalten und Auswirkungen, z.B. auf Substrate, vergleichbar zu machen.

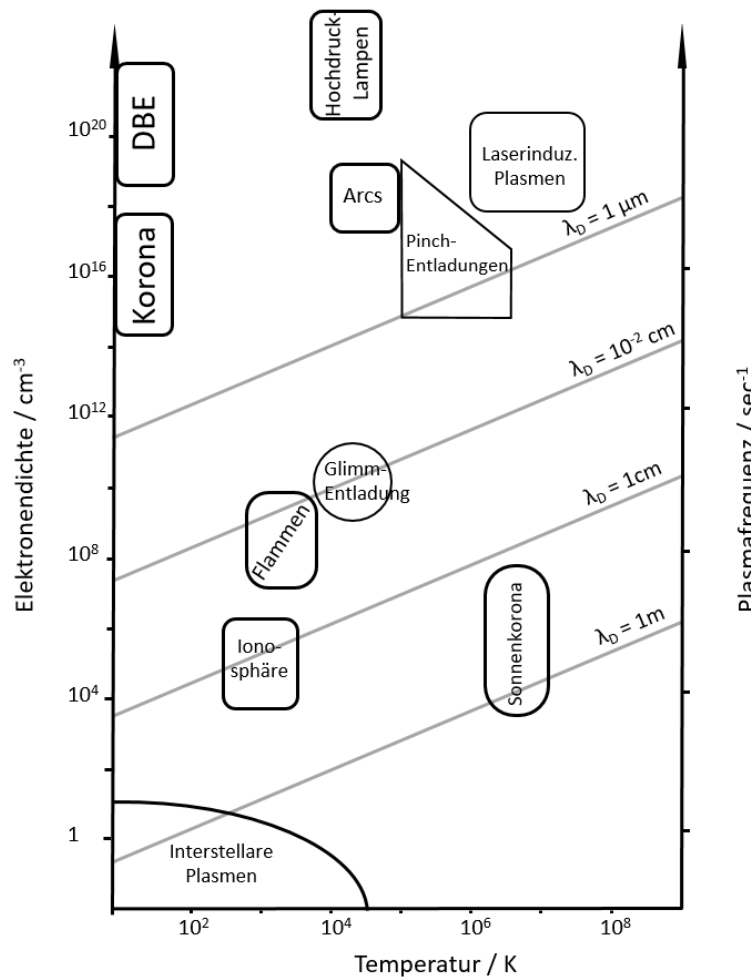


Abbildung 4.4: Prinzipskizze zur Einordnung im Dichte-/Frequenzraum aufgetragen über der Temperatur seiner Ionen/Neutralteilchen, in Anlehnung an [116]

Die zur Beschreibung der Plasmen herangezogenen Ansätze basieren aufgrund der großen betrachteten Teilchenzahlen auf statistischen Methoden. Wichtigster Ausgangspunkt zur Beschreibung technischer Plasmen ist hierbei die kinetische Gastheorie, die ihnen zugehörigen Gesetze und Annahmen aus der (statistischen)

Thermodynamik (Verteilungen von Temperatur und Energie) sowie der Wahrscheinlichkeitstheorie bzw. Prinzipien der statistischen Mechanik. Einige Grundlegende Ansätze werden im folgenden vorgestellt und ihr Zusammenhang kurz erläutert.

Durch diese hervorgehobene Darstellung der Zusammenhänge soll auch noch einmal verdeutlicht werden, wie wichtig die Angabe bestimmter Parameter bei Veröffentlichung etwaiger Ergebnisse ist. Wie z.B. aus Tabelle 3.1 ersichtlich, werden häufig nur rudimentäre Parameter, wie z.B. die verwendete Anregungsfrequenz und -Spannung sowie Arbeitsgase und Druckregimes angegeben. Einige der Veröffentlichungen geben auch eine eingekoppelte elektrische Leistung an. Immer wieder wird aber auch auf im Vorfeld bzw. Umfeld der eigentlichen Veröffentlichung entstandene Arbeiten verwiesen, wenn es um die "Charakterisierung" der verwendeten Plasmen geht. Eine Messung und Aufnahme der Parameter während der eigentlichen Versuchsdurchführung sowie die Angabe gemessener Temperaturen, welche tatsächlich auf die im verwendeten Plasma ablaufenden Reaktionen schließen lässt, sind nicht immer angegeben. Hierbei sollte zumindest eine Gastemperatur (T_{rot}) angegeben werden, um eine Nachvollziehbarkeit bzw. nachgeordnete, rudimentäre Simulation der Quellen zu ermöglichen. Erst hierdurch wird eine hinreichende und Veröffentlichungen übergreifende Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Studien ermöglicht.

Zur Boltzmannstatistik

Um beispielsweise den Zustand eines Systems bezüglich seiner positionsabhängigen Energie - bzw. Geschwindigkeitsverteilungen zu beschreiben, wird die Boltzmann-Gleichung herangezogen, welche die Wahrscheinlichkeitsverteilung eines Zustandes des Systems gibt. D. h. die Boltzmann-Gleichung zeigt die Wahrscheinlichkeit P_B an, beispielsweise ein Teilchen an einer bestimmten Position (x, y, z) zu finden und ordnet der Position eine bestimmte Geschwindigkeit (v_x, v_y, v_z) zu, oder umgekehrt. Sie ist also eine Gleichung, die beispielsweise eine statistische Verteilung von Teilchen in einem Medium angeben kann. P_B ist also eine Funktion des Ortes und der Geschwindigkeit (oder unter hin Zunahme der Masse auch der kinetischen Energie E_{kin}) der Gestalt

$$P_B(x, y, z, v_x, v_y, v_z) \, dx dy dz \, dv_x dv_y dv_z.$$

Man spricht auch von einer Wahrscheinlichkeitsverteilung im sechsdimensionalen Phasenraum.

Für den Fall, dass Position und Geschwindigkeit unabhängig von einander betrachtet werden können ergibt sich die sogenannte Maxwell-Boltzmann-Verteilung. Die Boltzmann-Verteilung (siehe Gleichung 4.3.1) ist z.B. bekannt aus Betrachtungen der barometrischen Höhenformel (Teilchendichte in einem Schwerfeld) oder Besetzungsdichte elektronischer Niveaus bei thermischer Anregung [126, 127]). So ergeben sich beispielsweise bei der Beschreibung des thermodynamischen Gleichgewichtszustandes eines Systems mittlerer Besetzungszahlen der unterschiedlichen Energieniveaus der Elektronen zu:

$$N_j = N \frac{g_j}{U_{(T)}} \exp\left(-\frac{E_j}{kT}\right) . \quad (4.3.1)$$

Hierbei steht N_j für ein über dem Grundniveau N_0 liegendes Energieniveau mit $j \in \mathbb{Z}$, g_j ist das statistische Gewicht des zugehörigen Energieniveaus, $U_{(T)}$ steht für die (kanonische) Zustandssumme (siehe z.B. [128, 129]).

Im Jahre 1872 wurde diese physikalische Statistik zur Beschreibung unterschiedlicher Vielteilchen Systeme von Ludwig Boltzmann aufgestellt[130], welches ermöglicht den Systemkomponenten unterschiedliche Mikrozustände zuzuweisen ¹⁶

Zur Maxwell-Boltzmann-Verteilung

Betrachtet man nun beispielsweise pauschal die Geschwindigkeitsverteilung P_M eines Vielteilchensystems, d. h. ortsunabhängig (Summe aller Geschwindigkeiten im betrachteten Raum $\rightarrow \int dx dy dz$), welches sich in einem thermodynamischen Gleichgewicht befindet, ergibt sich:

$$P_M(v_x, v_y, v_z) = \int dx dy dz P_B(x, y, z, v_x, v_y, v_z) . \quad (4.3.2)$$

Für die sogenannten maxwellverteilten Geschwindigkeiten des Teilchensystems gilt dann:

$$f(v)dv = \sqrt{\frac{2}{\pi}} = \left(\frac{m}{k_b T}\right)^{\frac{3}{2}} v^2 e^{-\frac{mv^2}{2k_b T}} dv, \quad (4.3.3)$$

¹⁶aufgrund seines im Jahre 1872 formulierten H-Theorems wurde erstmals eine mikroskopische Deutung des zweiten Hauptsatzes der Wärmelehre möglich. Hieraus resultierte dann die statistische Beschreibung der thermodynamischen Temperatur sowie der Entropie.[131–133]

wobei m die Masse des betrachteten Teilchens, k_b die Boltzmannkonstante und T die Temperatur des Teilchensystems angibt. Diese Gleichung lässt sich auch auf die Verteilung kinetischer Energien anwenden. Hierbei gilt dann $E = \frac{1}{2}mv^2$ für $f(E)dE$. Zur Herleitung der Maxwellverteilung siehe auch [130, 134].

Zur Saha-Gleichung

Neben der Beschreibung von Besetzungsdichten angeregter Zustände (Boltzmann-Verteilung) sowie Wahrscheinlichkeitsverteilungen der Energien unterschiedlicher Teilchen (Maxwell-Boltzmann-Verteilung) lässt sich unter der Annahme der Existenz eines thermodynamischen Gleichgewichts die *Saha*-Gleichung zur Beschreibung eines Systems heranziehen. Die *Saha*-Gleichung beschreibt hierbei das Ionisationsgleichgewicht bzw. den Ionisationsgrad des betrachteten Systems. Auch sie leitet sich aus der Boltzmann-Statistik ab (siehe [135]) und bezieht hierbei die unterschiedlichen Teilchendichten für Elektronen (N_e), Ionen (N_i) und Neutralteilchen (N_o) in die Betrachtung ein. Sie ergibt sich zu:

$$\frac{n_e \cdot n_i}{n_o} = \left(\frac{\sqrt{2\pi m_e kT}}{h} \right)^3 \cdot 2 \frac{g_i}{g_o} \cdot e^{\frac{eE'_i}{kT}} . \quad (4.3.4)$$

Die Interpretation der *Saha*-Gleichung ist dabei, dass genau diejenigen Atome ionisiert werden, bei denen die Energie E' der Elektronen gemäß der Boltzmann-Verteilung oberhalb der Ionisierungsenergie der jeweiligen Gasspezies liegt. Der Faktor g_i/g_o steht für die statistischen Gewichte (Zustandssummen) von Elektronen-Ionen-Paaren gegenüber neutraler Teilchen.

Zur Strahlungsemission

Bei einem Gas das sich im thermodynamischen Gleichgewicht befindet kann eine Temperatur thermodynamischen Sinne definiert werden. Die Strahlungsdichte, also die spektrale Energieverteilung innerhalb eines bestimmten Frequenzintervalls ν bis $\nu + d\nu$ wird hierbei durch das Plancksche Strahlungsgesetz beschrieben. Bezogen auf ein Frequenzintervall lautet die plancksche Formel[116] hierbei:

$$p(\nu, T) d\nu = \frac{8\pi h \nu^3}{c^3} \frac{1}{e^{h\nu/kT} - 1} d\nu . \quad (4.3.5)$$

Hierbei entspricht $p(\nu, T)$ einer Energiedichte pro Frequenzintervall.

Das durch die Gleichung 4.3.5 dargestellte Abstrahlungsverhalten eines Gases oder Körpers ist auch als sogenannte Schwarzkörperstrahlung bekannt. Bei steigender Temperatur steigt die Energie des Systems und das Maximum der Strahlungsverteilungskurve verschiebt sich in Richtung kürzerer Wellenlängen. Diese Eigenschaft ist als *Wiensches Verschiebungsgesetz* bekannt (siehe z.B. [116]).

Um die bis hierher genannten Annahmen zur statistischen Beschreibung eines Plasmas zu nutzen ist es notwendig von einem thermodynamischen Gleichgewicht auszugehen. Das bedeutet die Temperaturen der Teilchensysteme, wie bereits in Kapitel (5.1 alt) genannt, also der Elektronen, der Ionen sowie der Neutralteilchen und ihrer zugehörigen Freiheitsgrade (translatorisch, rotatorisch, vibratorisch, elektronisch) müssen über das gesamte betrachtete Volumen homogen verteilt sein [115].

Man sagt, das System muss sich in einem **vollständigen thermodynamischen Gleichgewicht** befinden. Dieses liegt nur dann vor, wenn alle Formen der Energieverteilung durch denselben Temperaturparameter beschrieben werden können [116]. Alle ablaufenden Reaktionen müssen auf mikroskopischem Level vollständig reversibel sein. Dies muss sowohl auf photonische Prozesse wie auch auf Kollisions-, Anregungs- und Dissoziationsprozesse zutreffen. Ein Zustand, der in der Praxis nie vollständig realisiert ist, was daran zu erkennen ist, dass beispielsweise immer, unabhängig von der Größe und Dichte des Plasmas, Photonen aus den Randbereichen austreten. Andernfalls wären diese spektroskopisch nicht zugänglich, also nicht beobachtbar [116]. Im Bereich der technisch erzeugten Plasmen ist ein tatsächliches, vollständiges thermodynamischen Gleichgewicht häufig nicht zu finden. Dieses Konzept ist deshalb als idealisiertes Basiskonzept zu betrachten [120].

Im Bereich der technischen Plasmen kommt es häufig zu einer Ausbildung von Temperatur - und Dichtegradienten.

Hier kommt nun das zuvor genannte Konzept des **lokalen thermodynamischen Gleichgewichts** (LTE¹⁷) zum Tragen.

Diesem liegt die Annahme zugrunde, dass Stoßprozesse das Verhalten des Plasmas dominieren. Man spricht hierbei von optisch dünnen Plasmen innerhalb derer die Stoßanregungs-, bzw. Abregungsraten deutlich größer sind als die Raten für photonische An- bzw. Abregung. Die Strahlungsanteile des Plasmas können somit vernachlässigt werden. Das plancksche Strahlungsgesetz findet bei lokalem thermischen Gleichgewicht keine Anwendung.

¹⁷local thermodynamic equilibrium

Die Annahme eines stoßdominierten Plasmas kann getroffen werden, solange zum Beispiel Temperatur und Dichte lokal nur geringen Schwankungen unterworfen sind. Die Angabe *lokal* lässt sich hierbei z.B. durch die mittlere freie Weglänge von Elektronen definieren. Ausgehend von einer bestimmten Neutralteilchendichte dürfen innerhalb eines Zeitraums, welcher zwischen zwei Kollisionsereignissen eines Elektrons liegt keine relevanten Temperaturgradienten auftreten. Die freie Weglänge λ_e , also ein Maß für die Kollisionswahrscheinlichkeit innerhalb eines Gases, resultiert hierbei aus der Teilchendichte n_0 des betrachteten Gases sowie dessen zugehörigem Wirkungsquerschnitt σ und folgt dem Zusammenhang:

$$\lambda_e = \frac{1}{n_0 \cdot \sigma} . \quad (4.3.6)$$

Ausgehend von der zuvor genannten Bedingungen kleiner Temperaturgradienten zwischen zwei Kollisionsereignissen eines beschleunigten Elektrons in einem elektrischen Feld gilt also die Annahme

$$\lambda_e \cdot e \cdot E \ll \frac{3}{2} k_b T_e , \quad (4.3.7)$$

wobei die rechte Seite der Gleichung der thermischen Energie $E_{thermisch}$ des Teilchens unter Berücksichtigung der drei Raumrichtungen entspricht [136].

Konkrete Abschätzungen zur Anwendbarkeit der genannten Gesetzmäßigkeiten, ausgehend von einem LTE, ist durch die von *Fujimoto* und *McWhirter*, *Griem* und *Numano* veröffentlichten Werke getroffen worden. Die zugrundeliegenden Annahmen sowie Validität und Übertragbarkeit auf höherzahlige Gase wurden umfassend veröffentlicht [137–139].

Als empirische ermittelte Gleichung für die Abschätzung einer vorhandenen Elektronendichte n_e eignet sich das sog. McWhirter-Kriterium [137],

$$n_e > 1,6 \cdot 10^{12} \cdot T_e^{1/2} (\Delta E)^3 \text{ cm}^{-3} . \quad (4.3.8)$$

Bei der vorliegenden Gleichung ist T_e die Elektronentemperatur in *Kelvin* und ΔE die betrachtete Energiedifferenz zweier Zustände. Bei den meisten Elementen ist eine Elektronendichte von $n_e \geq 1 \cdot 10^{16} \text{ cm}^{-3}$ hinreichend für die Annahme des Vorhandenseins eines LTE.

Ausgehend von den in Kapitel 5.1 bzw. den unter [140] veröffentlichten Daten zum Plasmaläusekamm ist bei dem dort verwendeten Plasma

($T_e = 42,7 \cdot 10^3 \text{ K}$; $\Delta E = \text{Energie des betrachteten Stickstoff-Übergangs}$ ¹⁸) von einer Elektronendichte von ca. $3,6 \cdot 10^{17} \text{ cm}^{-3}$ auszugehen. Die Annahme eines LTE ist somit valide. Zwar wird bei einem einzelnen Elektronenstoß nur wenig Energie auf die schweren Teilchen des Plasmas übertragen (siehe Nicht-Gleichgewichtsplasmen), dennoch spielen die Elektronen aufgrund ihrer hohen Anzahl und daraus resultierend ihrer hohen *Wechselwirkungsrate* eine entscheidende Rolle. Diese *Wechselwirkungsrate* wird auch als *Stoßrate* bezeichnet. Die mittlere Stoßrate lässt sich aus der zwischen zwei Stößen, also über die mittlere freie Weglänge, aufgenommene Geschwindigkeit zu

$$\bar{\nu} = \frac{\bar{v}}{n_g \cdot \bar{\lambda}_e} \quad (4.3.9)$$

berechnen. Die Geschwindigkeit des Teilchens hierbei aus der vorhandenen (thermischen) Geschwindigkeit v_{therm} sowie der im Feld aufgenommenen (Drift-) Geschwindigkeit v_{Drift} zusammen. Aufgrund der sehr hohen mittleren Stoßraten bei Atmosphärendruck können sich die Temperaturen der Elektronen (T_e) sowie der schweren Teilchen (T_i bzw. T_g) angleichen, wobei Sie sich bei Niederdruckbedingungen um einige Größenordnungen unterscheiden können (siehe auch Abb.: 4.3).

Es werden über das *McWhirter-Kriterium* hinaus weitere Kriterien zur eindeutigen Feststellung der Einhaltung der LTE-Kriterien hinzugezogen, welche hier zur vereinfachten Darstellung des Sachverhalts nicht erörtert werden (siehe hierzu [141]).

Bei den in dieser Arbeit hauptsächlich zum Einsatz kommenden Plasmaquellen werden dielektrisch behinderte Entladungen (DBE) erzeugt. Diese bringen den Vorteil mit sich, dass die Temperatur der Neutralteilchen T_g nahezu auf Raumtemperatur verweilt, während die Elektronentemperatur T_e im Mittel immer noch einige eV erreichen können. Bei den DBE wird dieser Effekt durch Einbringen eines sogenannten Dielektrikums (isolierendes Material; siehe auch [18, 99] etc.) erzielt, welcher die Etablierung eines konstanten Stromflusses unterbindet¹⁹. Bei den so erzeugten Entladungen handelt es sich also um sogenannte **Nicht-Gleichgewichts-Plasmen**. Aufgrund stark voneinander abweichenden Temperaturen der Teilchensysteme muss bei dieser Entladungsart von einer starken Störung des LTE ausgegangen werden. Deshalb muss auf eine Beschreibung durch die oben genannten thermody-

¹⁸Energie des Übergangs: $2s^22p^3-2s^22p^2(^3P)3s = 10,3 \text{ eV}$; nach *NIST Data Base for Atomic Spectra*; <https://physics.nist.gov/cgi-bin/ASD/energy1.pl>;

¹⁹Die verschiedenen Möglichkeiten zur Realisierung solcher Aufbauten können diversen Literaturquellen wie z.B. [18, 28, 35, 99, 121] u.v.m. entnommen werden

namischen Beziehungen weitgehend verzichtet werden, was die Charakterisierung dieser Plasmen deutlich erschwert. Ausgehend von bestimmten Annahmen kann die Beschreibung dieser Plasmen nun aber über folgenden Weg beschritten werden.

Aufgrund sehr kurzer Entladungs- bzw. Zündzeiten ($\tau_P \approx 100 \text{ ns}$ [142]) können bei DBE's die schweren Neutralgasteilchen zunächst als stationär betrachtet werden. Dies gilt auch für die Ionisation durch Elektronenstöße (siehe *Franck-Condon-Prinzip* [143, 144]). Die geladenen Teilchen folgen dem angelegten Feld und übertragen ihre Energie durch elastische Stöße auf ihre Stoßpartner. Hierbei läuft der Energieübertrag von Ionen zu Neutralteilchen aufgrund eines Masseverhältnisses von $m_i/m_g \approx 1$ sehr effizient ab. Im Gegenteil hierzu steht das Verhältnis der beschleunigten Elektronen, welche bei elastischen Stößen mit Schwerteilchen in einem deutlich schlechteren Masseverhältnis stehen. Dieses ergibt sich über das Verhältnis des beschleunigenden Feldes ΔE zur vorhandenen Energie des bewegten Elektrons ϵ aus dem Impulserhaltungssatz²⁰ zu ca. $2m_e/m_n$ (z.B. beim neutralen Stickstoffatom ($\approx 14u$) zu $\approx 8 \cdot 10^{-5}$).

Bei den hier betrachteten Atmosphärendruckplasmen liegen typische Zeitkonstanten der Feldausbreitungsgeschwindigkeiten beim Zündvorgang üblicher Weise in der Größenordnung einiger $10 \cdot 10^{-9} \text{ s}$ [28, 146]. Da die „freien“ Elektronen im Plasma aufgrund ihrer geringen Masse zeitlich veränderlichen Feldern aber bis zu einer Frequenz der Größenordnung von ca. $\omega_p \approx 10 \cdot 10^{11} \text{ s}$ (Berechnung der *Cut-Off* bzw. Plasmafrequenz über Gleichung 4.1.7) folgen können, ergeben sich aus den zugehörigen Relaxationszeiten (ca. 5τ mit $\tau = \omega_p^{-1}$) ungestörte Verteilungsgleichgewichte der Elektronen in diesen Zeiträumen. Hieraus resultiert die Annahme, dass die auftretenden Felder für die Elektronen als Konstant zu betrachten sind.

Darüber hinaus weisen die Hin- und Rückprozesse der unterschiedlichen Stoß-Wechselwirkungen (elastisch, inelastisch, superelastisch; siehe auch [145]) und Ionisationsprozesse (z.B. Penning-Ionisation [147, 148]) aufgrund nicht ausreichend langer Thermalisierungszeiträume [99, 115] relevante Unterschiede in ihrer Bilanzierung auf [120]. Die zuvor bei VTE und LTE getroffenen Annahmen und Voraussetzungen, welche bei Einsatz der Boltzmann-Gleichung zu einer Maxwell-Verteilung der Elektronenenergien führte, gelten somit nicht mehr uneingeschränkt [149].

Dies führt zur der Notwendigkeit die stationäre, homogene Boltzmann-Gleichung

²⁰elastischer Energieübertrag beim Stoß leichter Teilchen mit schweren Neutralteilchen siehe z.B. *Braithwaite* [145]

für DBE bei Atmosphärendruck zu lösen, um die abweichende Energieverteilungsfunktion der Elektronen zu ermitteln. Zur Lösung der Boltzmann-Gleichung wurde nun der Boltzmann-Solver *BOLSIG*⁺ eingesetzt. Dies führt unter Verwendung der veröffentlichten Daten zum Plasmaläusekamm (siehe Kapitel 5.1 bzw. [140] zu einer Elektronenenergieverteilungsfunktion (EEVF) wie nachfolgend in Abb.: 4.5 dargestellt.

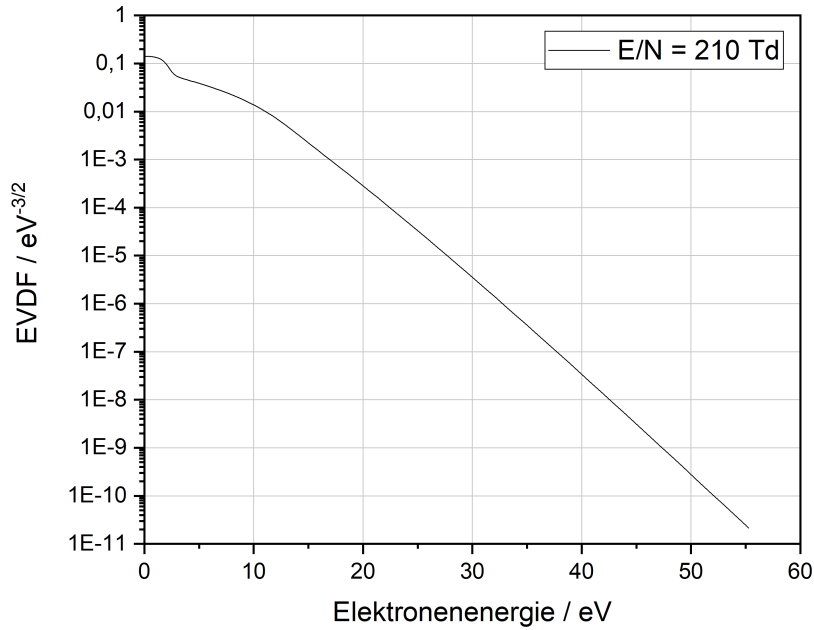


Abbildung 4.5: Mit realen Werten des sog. *Plasmaläusekamms* (Gastemp.: 600 K, Ionisationsgrad: $1 \cdot 10^{-6}$ bei $1 \cdot 10^5$ Pa) berechnete EEVF in Luft (Annahme $n_{N_2} : 0,78$, $n_{O_2} : 0,22$) für eine reduzierte Feldstärke von 210 Td (siehe Kapitel 5.1). Verwendeter Solver: *BOLSIG*⁺-Version 11/2019 [149]; Daten zu Wechselwirkungsquerschnitten aus: *Morgan database, www.lxcat.net, retrieved on February 4, 2020*. Hieraus ergibt sich nach *Hagelaar u. Pitchford*[149] eine mittlere Elektronenenergie von 5,1 eV.

Durch die Faltung einer so gewonnenen EEVF mit den Wirkungsquerschnitten σ der unterschiedlichen Wechselwirkungsprozesse in einer Gasentladung lassen sich nun spezifische Ratenkonstanten k_i für die unterschiedlichen, in einer Plasmaentladung auftretenden elementaren Wechselwirkungsprozesse (z.B. Ionisation, Dissoziation, elektronische Anregung, Elektron-Ion-Rekombination, etc.) ermitteln (zu den unterschiedlichen Ratenkoeffizienten sowie deren Herleitung siehe auch [99, 115]). Mit diesen so berechneten Werten und spezifischen Konstanten, resultierend aus begründeten Annahmen und unterschiedlichen Messungen zur Charakteri-

sierung von Plasmen (siehe auch Kapitel 5.1 sowie [150–152]), können solche Gasentladungen und die ihnen inhärenten Abläufe mittels simulativer Methoden und Ansätze [142, 153–157] analysiert werden.

Wie bereits zuvor erwähnt, ist eine gründliche Charakterisierung sowie eine Angabe der gemessenen Parameter und ermittelten Werte bei Veröffentlichung deshalb unerlässlich, um eine möglichst gute Basis für eine Arbeitsgruppen übergreifende Vergleichbarkeit verwendeter Plasmen bzw. Plasmaquellen zu erzielen.

5 Wissenschaftliche Publikationen

Das folgende Kapitel bildet die Publikationen ab, welche im Rahmen des Promotionsvorhabens entstanden sind. Obwohl einige der präsentierten Arbeiten auf den ersten Blick aus unterschiedlichen Themenfeldern stammen, ist das Gesamtwerk im übergeordneten, thematischen Kontext zu betrachten. Zunächst werden in diesem Kapitel die zwei maßgeblichen Arbeiten zur Bekämpfung von Insekten am Beispiel einer Pedikulose-Bekämpfung dargestellt. Kapitel 5.1 stellt den Abtötungsprozess eines Schadinsekts in einer seiner natürlichen Umgebung nachempfundenen Versuchsaufbau dar. Die bei den hier präsentierten Untersuchungen zur Wirksamkeit (Kapitel 5.1) und auftretenden Begleiteffekten auf das Haarmaterial (Kapitel 5.2) gemachten Erkenntnisse bieten einen guten Startpunkt für eine künftige klinische Studie.

Die Fragestellung nach der Einsatzmöglichkeit kalter Atmosphärendruckplasmen als alternative, pestizidfreie Schädlingsbekämpfungsmethode kann jedoch nicht allein im medizinischen Kontext eruiert werden. Die Möglichkeiten einer erfolgreichen Bekämpfung von Schadinsekten über die Bekämpfung von Humanparasiten hinaus wird aufgrund neuer Regularien im Agrar- und Lebensmittelbereich immer weiter in den Fokus rücken. Die generelle Effektivität der kADP in Form direkter Entladungen wird in den in Kapitel 3 sowie den hier präsentierten Arbeiten deutlich gezeigt. Um nun die Anwendbarkeit der Plasmatechnologie über die Anwendung direkt mit den Schadinsekten in Kontakt stehender Entladungsarten hinaus aufzuzeigen wird mit dem Kapitel 5.3 die Möglichkeit des Einsatzes plasmaaktivierten Wassers zur Bekämpfung von Schadinsekten eruiert. Testorganismus hier war mit der *Planococcus citri* die sog. Schmierlaus.

Neben den hinreichend bekannten Anwendungsmöglichkeiten einer plasmabasierten Beseitigung von Schadinsekten, Bakterien, Viren und Schimmelpilzen stellen Anwendungen zur Entfernung und Reduzierung bzw. Detoxifikation hoch toxischer Stoffwechselprodukte von Pilzen, sogenannter Mykotoxine, ein wichtiges und vielversprechendes Anwendungsfeld dar. Dieses Einsatzgebiet wird vor allen Dingen

dann interessant, wenn über die Einsatzmöglichkeit von Plasmen im Sinne einer Lebens- und Futtermittelaufbereitung nachgedacht wird. Das Aufzeigen der generellen Machbarkeit einer Mykotoxinreduktion durch die Anwendung von kADP ist bekannt und wurde bereits in unterschiedlichsten Arbeiten dargelegt [62, 63, 65–69, 158, 159]. Hierbei darf nicht vernachlässigt werden, dass viele Mykotoxine innerhalb einer natürlichen Umgebung gebildet werden. Dies hat entscheidenden Einfluss auf die durch eine Plasmaexposition zustande kommenden Abbauraten. Die nachfolgend in Kapitel 5.4 präsentierte Arbeit konzentriert sich deshalb auf die Untersuchung des Einflusses einer natürlichen Matrix auf die Abbauraten unterschiedlicher Mykotoxine bei Applikation eines kADP.

5.1 Der Plasmaläusekamm — Eine physikalische Pedikuloetherapie

Die Behandlung von Pedikulosen ist unter Verwendung aktueller Behandlungsmethoden ein für den Anwender anspruchsvoller Prozess. Eine gut funktionierende Behandlung muss neben der Entfernung oder Abtötung lebender Individuen der Familie der *Pediculidae* auch eine effektive Abtötung oder Entfernung der Eier (Nissen) berücksichtigen. Nur hierdurch kann der Entwicklungszyklus der Läuse durchbrochen und ein Befall erfolgreich beseitigt werden. Diese Herausforderung schlägt sich unmittelbar in den Anforderungen nieder, welche bezüglich der Effektivität an zur Pedikulosisebekämpfung angewandte Verfahren gestellt werden. Chemische Mittel müssen hier eine ausreichende *Knock-Down*-Wirkung aufweisen sowie eine hinreichende ovizide Wirkung entfalten.

Hierbei empfehlen das *Umweltbundesamt*²¹ sowie einschlägige Literaturquellen stets eine zweigliedrige, iterative Behandlung, welcher der Erstbehandlung nach ca. 8 Tagen – 10 Tagen folgen soll [160, 161]. Dies dient einer garantierten Unterbrechung des Entwicklungszyklus und somit einer Beseitigung des Läusebefalls, welcher nur durch dieses iterative Vorgehen garantiert werden kann.

Im Rahmen der hier präsentierten Studie wurde eine Plasmaquelle evaluiert, welche eigens für den künftigen Einsatz auf mit Kopfläusen befallenen menschlichen Köpfen entwickelt wurde. Hierbei lag das Hauptaugenmerk neben einer grundlegenden Charakterisierung der Plasmaquelle auf der Erstellung einer Wirksamkeitsstudie zur Evaluierung der Abtötungsraten des Geräts gegenüber Läusen sowie deren Eier sowie der Erstellung eines ersten *Risk Assessments* zur Gewährleistung der notwendigen Anwendersicherheit.

Die in der Studie präsentierten Abtötungsergebnisse sind vor allem deshalb als positiv zu bewerten, da die diese Ergebnisse mit nur wenige Sekunden andauernden Behandlungszeiten realisiert werden konnten. So gelang es bei der Verwendung eines einzelnen Kämmzuges, Abtötungsraten von > 65% zu erzielen. Auch die Abtötung der Eier konnte, trotz sehr kurzer Behandlungszeiten von 1 s, nachgewiesen werden. Bei den präsentierten Untersuchungen konnte ferner eine signifikante Dependenz der Resultate vom jeweiligen Geschlecht der lebenden Individuen (Kämmversuch

²¹Das UBA gehört neben dem *Bundesamt für Naturschutz*, dem *Bundesamt für kerntechnische Entsorgungssicherheit* und dem *Bundesamt für Strahlenschutz* zum Geschäftsbereich des *Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit* BMU.

an Läusen), wie auch vom Alter der behandelten Eier nachgewiesen werden. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung der Ergebnisse war die generelle Wirksamkeit von Plasmen gegenüber diesem Zielorganismus nicht unbekannt. Jedoch wurden diese ausschließlich mit Laboraufbauten und Geräten erzielt, welche zur Anwendung am Menschen nicht geeignet waren. Ferner haben bisherige Veröffentlichungen [79, 82, 84] die Anwendung der verwendeten Plasmen auf menschlichem Haar außer Acht gelassen. Dies gilt sowohl bezüglich deren Einflusses auf die Behandlungseffizienz als auch bezüglich der potentiellen Schädigung des Haarmaterials selber. Die Integration der Technologie in praktikabler Form sowie darüber hinaus die Durchführung einer Untersuchung gerätetechnischer Spezifika auch unter Anwendersicherheitsaspekten fand bis dato nicht statt. Die Weiterentwicklung des Plasmaläusekamms (basierend auf [162]), wie hier präsentiert, fand im Rahmen des Forschungsschwerpunkts „*Plasmagestützte Schädlingsbekämpfung im Alltag*“ (BMBF Förderkennzeichen: ZN 2779) statt ²². Die geschlechtsspezifische Abhängigkeit der Behandlungseffizienz, wie auch der spezifische Zusammenhang des Alters der Eier bezüglich der plasmainduzierten Abtötungsraten waren bisher nicht bekannt. Die während einer Behandlung auftretenden, geschlechterspezifischen Resilienzunterschiede lassen sich hierbei vermutlich auf die anatomische Besonderheit einer dickeren Kutikula der männlichen Individuen zurückführen. Die höhere Robustheit älterer Eier ist in der Vergangenheit auch bei der Applikation klassischer, nass-chemischer Mittel beobachtet worden. Aufgrund des auftretenden Schadbilds der untersuchten Individuen wurden bereits erste Hypothesen und nachfolgend weitere Untersuchungen zu den verantwortlichen Wirkmechanismen angestellt.

Die beschriebenen Untersuchungsreihen und die daraus resultierende Darstellung der Daten zur Wirksamkeit und Risikoabschätzung des Geräts wurden im nachfolgenden Fachartikel sowie einem nachgestellten Erratum zur Korrektur der vormals veröffentlichten Werte der entstehenden Ozonkonzentrationen publiziert. Das Erratum wird direkt an die eigentliche Veröffentlichung angefügt und nicht gesondert diskutiert, da sich die Aussagen der Hauptveröffentlichung durch die Korrekturen nicht verändern.

²²Der Forschungsschwerpunkt unterlag der Leitung von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Viöl sowie Herrn Lars ten Bosch. Die Neue Gehäuseform des Geräts wurde gemeinsam mit einem Designteam der HAWK überarbeitet; siehe Anmerkungen in nachfolgender Veröffentlichung. Die verwendete Elektronik basiert auf dem ursprünglichen Patent [162] Die Anpassungen bzgl. der verschränkten Elektrodenanordnung sowie die Anpassung der Abstandshalter zur Effizienzverbesserung am Patienten entstammen der Feder des Autors der vorliegenden Arbeit.

Quelle Originalveröffentlichung:

Lars ten Bosch, Birgit Habedank, Dominik Siebert, Julia Mrotzek, Wolfgang Viöl

Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb — A Physical Approach for Pediculosis Treatment

Journal: International Journal of Environmental Research and Public Health; 2019; 16(1), 19;

doi: 10.3390/ijerph16010019 (Web of Science Impact Factor: 2.468 (2019))

Quelle Erratum:

Lars ten Bosch, Birgit Habedank, Dominik Siebert, Julia Mrotzek, Wolfgang Viöl

Erratum: ten Bosch et al. Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb — A Physical Approach for Pediculosis Treatment

Journal: International Journal of Environmental Research and Public Health; 2020; 17(2), 20;

doi: 10.3390/ijerph17020450 (Web of Science Impact Factor: 2.468 (2019))

Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb—A Physical Approach for Pediculosis Treatment

Lars ten Bosch ^{1,*}, Birgit Habedank ², Dominik Siebert ¹, Julia Mrotzek ¹ and Wolfgang Viöl ¹

¹ University of Applied Sciences and Arts HAWK, Faculty N, Von-Ossietzky-Strasse 99/100, 37085 Göttingen, Germany; dominik.siebert@hawk.de (D.S.); julia.mrotzek@hawk.de (J.M.); wolfgang.vioel@hawk.de (W.V.)

² German Environment Agency, Corrensplatz 1, 14195 Berlin, Germany; birgit.habedank@uba.de

* Correspondence: lars.bosch@hawk.de; Tel.: +49-512-188-1264

Received: 13 November 2018; Accepted: 14 December 2018; Published: 21 December 2018

Abstract: Pediculosis, that is the infestation of humans with *Pediculus humanus capitis* (head lice), poses a worldwide problem that is as old as mankind itself. Over the centuries, man has developed a variety of remedies, all of which have ultimately culminated in the use of chemical agents. Some of these remedies are known to produce successful results. A large portion of the effective remedies used to kill lice and their eggs contain insecticides, but there is an increasing number of reports of head lice populations revealing an increased resistance. This study presents an alternative treatment approach, the efficacy of which is based on physical effects. Cold atmospheric pressure plasmas have successfully shown their formidably wide application range within the field of plasma medicine. This study presents a plasma device in its current stage of development that is engineered as a consumer product to enable an alternative physical and insecticide-free option for the treatment of pediculosis. An efficacy study concerning different developmental stages of *P. humanus humanus* is presented. *P. humanus humanus* was chosen as a substitute test organism for *P. humanus capitis* due to possible laboratory rearing and high anatomic similarity. The study shows how a single stroke of the plasma device over a hair strand (approximately 22 cm in length with a weight of 1.5 g) led to mortality rates of 68.3% (50.0; 79.7) (95% CI) in the juvenile test group, a mortality rate of approx. 67.7% (54.9; 78.8) (95% CI) in the female test group, and approx. 46.7% (28.3; 65.7) (95% CI) in the male test group. When single eggs were introduced directly into the plasma for approx. 1 s, younger eggs (0–2 d) showed a higher mortality of 66.7% (42.7; 82.7) than the older (4–6 d) eggs, with 16.7% (5.6; 34.7) (CI). Furthermore, the results of a risk assessment of the device are described. The article concludes with necessary handling instructions as well as further developmental steps, derived from the results of the efficacy and the risk assessment study.

Keywords: CAPP; *Pediculus humanus*; head lice; body lice; pediculosis; physical treatment; plasma-based pest management; plasma comb

1. Introduction

Over the course of the last few decades, increasing numbers of human lice globally have developed resistance to the active substances of various different classes of insecticides. Although there are currently many different products on the market, ranging from pediculicides with pharmacological mode of action to various medical devices to treat head lice, the number of infestations remains high. On the one hand, there is a need to improve the application procedure and user instructions of given remedies [1,2]. On the other hand, the development of new effective methods with alternative modes of action is needed to safely eradicate lice infestations. Products developed for the control of lice on humans must meet three main requirements. Firstly, the applied pediculicide or procedure

must have a sufficiently high toxicity or killing effect to eradicate the lice population, while secondly, the toxicity or other adverse effects to the host must be kept at a minimum level. Thirdly, there should be no negative impact to the environment, as is already required for medicinal products, biocides, or pesticides [3]. The second requirement is of utmost importance, as head lice are widespread among children. When treating pediculosis, a high effectivity of the applied treatment at a preferably low impact on the host organism is tantamount, leaving no side effects.

The most important reason for the development of an easy-to-use plasma device for the treatment of pediculosis is the possibility of omission of pesticides. Different clinical and parasitological studies show how quickly lice can adapt to the use of different agents. Durand et al. [4] showed how, due to the alteration of binding sites within the treated lice as well as strongly reduced knockdown resistance, conventional topical pediculicides (neurotoxic insecticides) have suffered considerable effectivity loss globally [4,5]. Durand et al. concluded, in particular, that resistance to synthetic pyrethroids has become prominent due to their extensive use. With the present study, we hope to give some first impressions of atmospheric pressure plasmas as a possible treatment alternative to the conventional agents.

To overcome the threat of resistance development in lice, a physical treatment method was developed based on the concept of cold atmospheric pressure plasma (CAPP). As a key technology, CAPPs are currently used for purposes of surface modifications, like enhancement of wettability [6–8], precision cleaning purposes [9–11], or within the field of plasma medicine [12–14]. Known to be capable of interacting with biological surfaces and wounds, CAPPs have been developed to treat different diseases, ranging from skin diseases (e.g., [15–18]) to different cancer treatment approaches (e.g., [19–21]). Here, we present first results on CAPP as a prominent, pain-free tool for the treatment of pediculosis. The basic effectivity of a CAPP application using a handheld device to kill *Pediculus humanus* and their eggs is demonstrated. Furthermore, a risk assessment of the device concerning the exposure of possible applicants (i.e., emerging reactive species, possible patient leakage currents (PLCs), and UV radiation) has been measured and assessed. For easier readability, the device is hereinafter referred to as plasma comb (PlaCo).

2. Materials and Methods

A schematic of the setup used for the presented experiments is depicted in Figures 1 and 2. It consists of capacitively coupled V-shaped metal electrodes used for the generation of a cold plasma at atmospheric pressure forming a comb-like device. The device is driven using a 9-V battery giving total independence from the main supplies. Using a microprocessor controlled flyback converter with a primary/secondary transformer operated in resonance, the device is operated within the parameter field as depicted in Table 1. The applied voltage is regulated varying in turn with the duty cycle.

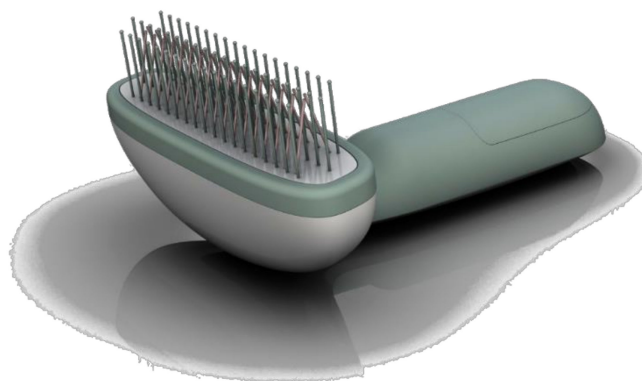


Figure 1. Rendered picture of the PlaCo showing three rows of spacing tines (straight tines) and two rows of active electrode tines (forming a V-shape). Design by Prof. Dipl. Ing. A. Schulz (Head of Course), Product and Industrial Design at HAWK.

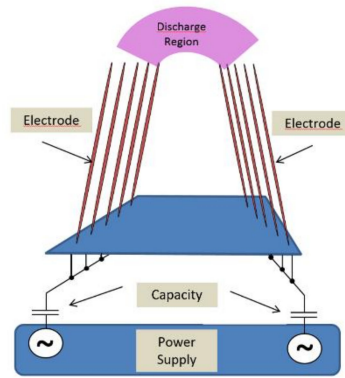


Figure 2. General scheme of the PlaCo setup.

Table 1. Parameter settings of the plasma comb (PlaCo) device.

Input Parameter	Value
Electrical power	≈ 590 mW
Discharge gap	≈ 4 mm
Appl. voltage	≈ 16 kV (p-p)
Natural frequency	≈ 245 kHz
Puls rep. rate	≈ 0.6 – 1 kHz
Waveform	decaying sine

The presented version of the PlaCo was engineered with five rows of tines (see Figure 1). Two rows forming a V-shape are the active electrode tines. The three remaining rows consisted of nonactive tines, keeping a constant distance of the active electrodes to the skin surface. To increase the volume of the active zone, the electrode tines were interlaced relative to each other and rotated 45° perpendicular to the combing direction. This arrangement of the prongs was chosen during the design process of the device. As the midst row of spacer prongs was positioned in between the electrode prongs, they were removed to guarantee a free passing of the hair. Figure 2 is giving a general idea of the setup.

2.1. Test Organisms and Treatment Procedure

To investigate the effect of a plasma treatment by the comb-like device to human lice in laboratory conditions, *Pediculus humanus humanus* (lice and eggs) served as test organisms. This is a standard test organism for basic and simulated-use efficacy tests of products to control *Pediculus humanus* and thus for decades has been an approved surrogate for efficacy studies in laboratory conditions that target the head louse *Pediculus humanus capitis* [22,23]. The lice derived from the insecticide-sensitive *P. humanus humanus* strain of the German Environment Agency.

The tests presented herein were conducted using separate groups of female (treatment $n = 65$, control $n = 60$), male (treatment $n = 30$, control $n = 60$), and third instar juvenile (treatment $n = 60$, control $n = 60$) lice on human hair strands of approx. 22 cm in length with a weight of 1.5 g. The lice were sucking blood for up to 15 min on rabbits a day prior to treatment and were subsequently stored in an incubator at 32°C and 50% relative humidity (RH). The treatments of the samples with the PlaCo device were conducted on hair strands in a horizontal position on a melamine tray using three to five lice/strand that were crawling arbitrarily throughout the hair. Using a single stroke of the device over the hair strand, the plasma was applied at a speed of approx. 2 cm/s. In the control groups, the treatment was conducted with the PlaCo without ignition. After the treatment, the test groups were incubated at a temperature of 32°C and a relative humidity of 50% until the end of the observations. The lice were inspected 16 h after treatment. The mortality was calculated as the fraction of lice that were dead or moribund and died without recovery, related to the overall number of observed individuals. Dead lice permanently did not show any external and internal vital signs. Stimulation by light and forceps was applied. Moribund lice were lying in an irreversible back position,

able to move extremities or antennae. Without external vital signs, an assessment of internal vital signs, like peristaltic of the ventriculus, was carried out.

To conduct experiments to determine the susceptibility of eggs of *P. humanus humanus* to a CAPP treatment, eggs in the early stage of embryonal development (0–2 d after deposition) and in the later stage of embryonal development eggs (4–6 d after deposition) were used. The eggs were deposited by females on a single natural hair. The hairs with single eggs were introduced directly into the plasma for approx. 1 s. The experiments were conducted at a temperature of approx. 22 °C and a relative humidity of approx. 56%. Two groups of untreated eggs served as control groups. Each of the groups within the trial consisted of 30 eggs. The mortality of the eggs was calculated as the fraction of the eggs that died (without full or incomplete hatch of larvae) related to the number of observed eggs.

The binomial 95% confidence interval of the mortality was calculated according to Clopper–Pearson. The Fisher’s exact test served to estimate the significance of the difference of the mortality ($\alpha = 0.05$).

2.2. Spectroscopic Temperature Measurements and Calculations

In order to characterize the plasma discharge regarding reduced electrical field strength and rotational, vibrational, and electron temperature, optical emission spectroscopy (OES) was used. When measuring and calculating these characteristics, it is possible to get an idea of the collisional properties of the plasma in discussion and therefore of the occurring species (e.g., reactive oxygen/nitrogen species (RONS)). These RONS are known to be of interest when applying atmospheric pressure plasma to biological surfaces. These characteristic parameters were measured and calculated to describe the device comprehensively and to give an idea of the parameter space in which the device was operating.

The spectra were obtained using an Échelle-Spectrometer (Aryelle-Butterfly 400; LTB Lasertechnik Berlin GmbH, Berlin, Germany) with a resolution of <80 pm. The spectrometer was calibrated to wavelength and relative intensity. The optical fiber was placed perpendicular to the filaments ignited between the active electrodes. Ten spectra were taken, each with an exposure time of 30 s. They were then dark corrected and integrated to increase the signal-to-noise ratio for further analysis. All spectra were taken at room temperature and ambient air (25 °C; 59% RH).

To determine the rotational temperature, the rotational structure of the 0–0 vibrational transition of the second positive system ($C^3\Pi_u-B^3\Pi_g$) of nitrogen of the measured spectra was compared to a database of simulated spectra using a routine as presented by Peters et al. [24]. The simulated data were produced using Specair 3.0 (SpectralFit, Antony, France), and all further calculations were conducted using MATLAB R2015b (The MathWorks GmbH, Ismaning, Germany). The spectra were examined in the wavelength ranges of 333.8–337.1 nm and 334.0–335.5 nm to determine a mean temperature and a maximum temperature as presented by Helmke et al. [25]. Vibrational temperatures were determined applying the Boltzmann plot [24]. To derive the electrical field strength, mean electron energy and electron temperature calculations were conducted as discussed by Peters et al. [24,26] using the method described in [27–29]. To achieve a high resolution, the integrated emission intensity of the complete rotational-vibrational bands (334.0–337.2 nm for the second positive system of nitrogen, respectively, 389.5–391.5 nm for the first negative system of nitrogen, respectively) was used to calculate the intensity ratios.

2.3. Safety Assessment

As the plasma source used was developed as a possible end-user product, the user safety of the device had to be determined. Three focal points were selected in order to assess the safety of a plasma source being applied on humans or mammals in general. The first of these was the occurring ozone concentration, which is generated prominently when working in oxygenic gases under moderate temperatures [30,31]. Secondly, the emission of UV-light had to be addressed. The third parameter which concerned operational safety was the so-called patient leakage current (PLC). Plasma sources that work based on the concept of dielectric barrier discharges (DBD) operate with high electric potentials.

The amplitudes of the applied voltages can range from a few kilovolts up to some 10 kV, and when used as medical or hygiene devices, work in close proximity to the skin of patients. When working in these conditions, low leakage currents are crucial for the safe electrical applicability of the devices.

2.3.1. Ozone Concentration Measurements

Plasma sources operating in ambient air at atmospheric pressure realized as a dielectric barrier discharge or similar are known to produce ozone (CAS-Nr.: 10028-15-6). Humans are able to sense very low concentrations of only a few 0.01 ppb, which lies well below the permissible levels that are set as limits for exposure by different governmental organizations. The US Occupational Safety and Health Administration (OSHA (Occupational Safety and Health Administration, USA)) determines a limit of 0.1 ppm over an 8-h time weight average (TWA) and a short-term exposure level (STEL) of 0.3 ppm. The Control of Substances Hazardous to Health Regulations (COSHH (Control of Substances Hazardous to Health Regulations, GB)), as a statutory instrument in Britain, operates under different workplace exposure limits [32]. Here, the STEL is given to be 0.2 ppm. The COSHH does not provide any information concerning the TWA. The different limits of OSHA and COSHH are presented in Table 2. To assess the ozone concentration levels which were generated during the plasma treatment, the measurements were taken using the Ozone Monitor Model 106-L, from 2B Technologies, Inc. (Boulder, CO, USA). These ozone monitors perform with a detection limit of 1.5 ppb to an upper limit of 100 ppm. Precision and accuracy are given to be higher than 1.5 ppb or 2% of reading. The ozone monitor was operated at a flow rate of approx. 1 L/min. Cell temperature (29 °C) and voltage of the photodiode (1.8 V) were constant over the measurement period as well as the cell pressure (946 Torr).

Table 2. Ozone concentration maxima following regulatory bodies of Great Britain and the United States.

	O ₃ -max. OSHA in ppm	O ₃ -max. COSHH in ppm
STEL (15 min)	0.3	0.2
TWA (8 h)	0.1	/

The measurements were conducted in a very large open room (>400 m³) at approx. 20 °C. This setup provides the opportunity to omit possible concentration effects during the measurement periods of 5 min. As the measurements were conducted in an open room, the occurrence of slight air drafts during the measurements was unavoidable. This circumstance was accepted as it reflects on the reality of the later real-life treatment scenarios.

The distance from the user to the source plays a vital role when assessing the ozone concentrations. Therefore, the measurements were performed at three different distances from the source, starting from 0 cm (interelectrode section and worst-case scenario) over 1 cm up to 10 cm (forehead–nose distance). The distance of 10 cm was estimated as the average approx. forehead/temple to nose distance when applied on the human head.

2.3.2. UV Emissivity Measurements

To determine the UV radiation emitted by the used plasma source, a measuring setup was employed as described in detail by Helmke et al. [25] using an absolute calibrated detector head UV-3719-4a(z) operated on a X1-1 optometer from Gigahertz-Optik (Tuerkenfeld, Germany). The detector head had a cosine-corrected field of view taking into account that human skin acts as a Lambertian surface (i.e., an ideally scattering surface). As in the present case the plasma of the PlaCo was ignited between two electrodes, no further counter electrode (e.g., indium tin oxide (ITO) covered glass, as presented by [25]) was necessary for measurements concerning this setup. The omission of this counter electrode afforded an easier measurement setup where no absorption of any further material in the direct beam path had to be considered.

An emission spectrum of the PlaCo was recorded using an AvaSpec-ULS3648-Usb2 from Avantes BV (Apeldoorn, The Netherlands).

To assess the UV emission of the PlaCo device and to calculate a maximum exposure limit, all of following calculations were conducted following ISO/CIE 19476 [33] and the ICNIRP *Guidelines on Limits of Exposure to Ultraviolet Radiation* [34]. These calculations are necessary when applying an integral radiometer to correct the detector readings from its spectral sensitivity to a user-chosen weighting function. In our case, the correction related to the relative spectral effectiveness $S(\lambda)$ of UV radiation on human skin and yielded the reciprocal spectral mismatch correction factor (SMCF) a^* . To calculate the correct SMCF for the spectra of the PlaCo, four sets of information were needed: (1) an emission spectrum from the PlaCo itself; (2) the emission spectrum of the calibration lamp used by Gigahertz-Optik for the initial calibration; (3) the relative spectral effectiveness of the human skin calculated according to [34]; and (4) the relative spectral sensitivity of the UV-3719-4a(Z) detector head. The second and fourth datasets were kindly provided by Gigahertz-Optik. With this data, the effective irradiance E_{eff} (W m^{-2}) of the PlaCo was calculated as follows:

$$E_{eff} = \frac{E_{meas}}{a^*} \quad (1)$$

with

$$a^* = \frac{\sum E_{cal,\lambda} \cdot S(\lambda) \cdot \Delta\lambda}{\sum E_{cal,\lambda} \cdot Z(\lambda) \cdot \Delta\lambda} \cdot \frac{\sum E_{\lambda} \cdot Z(\lambda) \cdot \Delta\lambda}{\sum E_{\lambda} \cdot S(\lambda) \cdot \Delta\lambda} \quad (2)$$

Here, E_{meas} is the measured irradiance (W m^{-2}) of the detector, $E_{cal,\lambda}$ is the spectral irradiance of the calibration lamp at wavelength λ , $S(\lambda)$ is the relative spectral effectiveness (unitless) and is calculated according to [34] in the range of 250–400 nm, E_{λ} is the spectral irradiance of the PlaCo at wavelength λ ($\text{W m}^{-2} \text{ nm}^{-1}$), and $Z(\lambda)$ is the relative spectral sensitivity of the detector head (unitless). The proper determination of the effective irradiance (E_{eff}) of a broadband source is crucial when the goal is safely minimizing the long-term risks during skin exposure to a UV radiation source.

In [34], the (effective spectrally weighted) limit value for UV exposure to the human skin is stated as $30 \text{ J m}^{-2} / \text{day}$. This allows the calculation of the maximum duration of exposure per day t_{max} :

$$t_{max} = \frac{30 \text{ J m}^{-2}}{E_{eff}} \quad (3)$$

2.3.3. Patient Leakage Current Measurements

The assessment of the PLC of the PlaCo was performed following DIN EN 60601-1. Therein, it is stated that the patient leakage current must not exceed 10 mA at any time. The limits for PLC are given to be max. 10 μA at normal condition (NC) and max. 50 μA at single fault condition (SFC). These limits consider the PLC setup, using a 9-V battery as the power source, to function as a body float setup (BF) following the same DIN.

The considered case for this measurement was the measuring section of patient contact point to ground. The measurement arrangement (patient model) is shown in Figure 3. For the presented measurements, the DT-8000 voltmeter (ELV AG, Leer, Germany) was used, following the DIN. The occurring current equivalent voltage drop over C_1 was measured, which can be considered equivalent to the voltage drop over R_2 , due to the high resistant ratio between R_1 and R_2 . Functioning as scalp models, two different measurement setups were used—the first using a piece of pork meat, the second with an aluminum electrode, respectively. Introducing the meat into the circuit gave a more natural ignition behavior of the PlaCo compared to the metal reference electrode, which resulted in much hotter, spark-like discharges. Four different cases could be measured for every electrode. The first case may be considered the “standard” case, where the electrode prongs were kept at a constant distance of 2 mm using the spacer prongs. The second case, called “worst case” here, was simulated with one side of the electrodes touching the test electrode completely. Here, no plasma was ignited but

a current did flow. These two cases were subdivided into two further cases. In case three, the PLC of the device was measured using only the battery (floating potential), resembling the real-life operating mode. In case four, the negative side of the power source was grounded to bring it to a defined potential level.

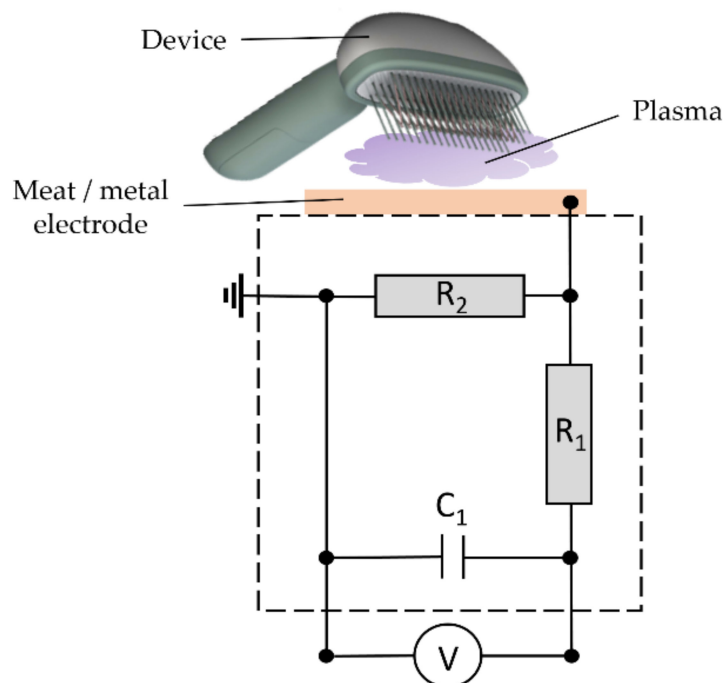


Figure 3. Schematic diagram for patient leakage current (PLC) measurements following DIN 60601-1; $R_1 = 10 \text{ k}\Omega$; $R_2 = 1 \text{ k}\Omega$; $C_1 = 10 \text{ nF}$; V measured by ELV DT-8000 voltmeter.

3. Results

3.1. Plasma Comb Efficacy Tests on Lice

Depending on the duration and mode of contact to the plasma, the immediate effects of the treatment to the lice varied from no visible effects over an abnormal movement to visible internal damage within 20 min to 6 h post-treatment. When heavily impaired within the first minutes after treatment, a perspiration-like release of liquid apparently through the cuticle was observed. This plasma-induced impairment was reproducible and was often followed by a leakage of the digested blood from the ventriculus into the surrounding hemolymph. First observation measurements using an imaging technique called optical coherence tomography (OCT) revealed a clear rupture incident detectable only a few minutes after plasma treatment. This rupture seems to occur in the joint between the mid-gut and head section, leading to internal damage of the intestines, and often occurs within the first few minutes up to 6 h subsequent to plasma treatment (OCT results not presented). Dead lice often showed desiccated and partially deformed features and a progressive invasion of blood residues from the ventriculus area into the thoracic hemolymph region and into the extremities. It is apparent that the necessary time period, elapsing to reach exitus, was determined by the quality of the treatment (full exposure/partial exposure).

The damage pattern occurring in the treated lice is depicted in Figure 4.

As depicted in Figure 5, when simulating a treatment procedure at 2 cm/s (see Section 2.1), the mortality of the third instar larvae in the treatment group amounted to approx. 68.3% (50.0; 79.7) (95% CI). The group of adult females showed a mortality rate of approx. 67.7% (54.9; 78.8) (95% CI), which was comparable with the mortality rate of juvenile group. When looking at the adult group of treated male individuals, the mortality rate was lower, revealing a mortality of approx. 46.7% (28.3;

65.7) (95% CI). Only a small percentage of dead lice were observed in the control groups (juveniles: 0%; female imagines: 2%, male imagines: 3%).

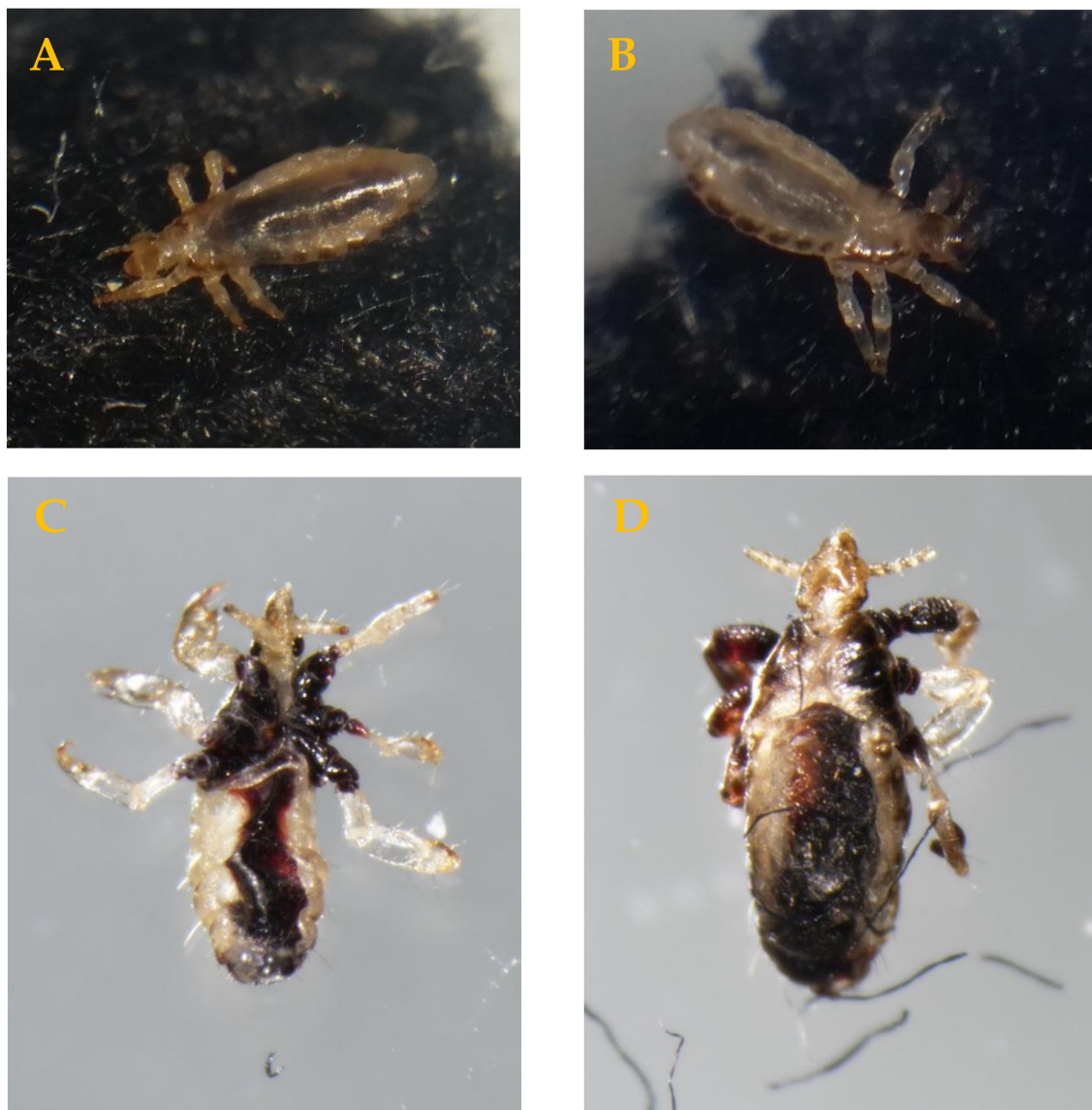


Figure 4. (A) Third instar of *Pediculus humanus humanus* directly after plasma treatment. The movement was impaired. (B) Third instar of *P. humanus humanus* directly after plasma treatment. Perspiration occurs with impairment of movements. (C and D) Damage pattern in third instar lice 6 h subsequent to plasma treatment. Depending on quality of treatment, this damage pattern began to occur a few minutes after treatment, showing transgression of the human blood from digestive tract to the surrounding hemolymph. After 6 h, clearly visible exsiccation and deformation of head, body, and extremities occurred. The overall lengths of the depicted lice are approx. 2.3 mm.

The treated eggs demonstrated varying mortalities after the plasma treatment. Younger eggs (0–2 d) showed a higher mortality of 66.7% (42.7; 82.7) than the older (4–6 d) eggs, with 16.7% (5.6; 34.7) (CI) at the end of the observation period ($p < 0.001$). The control group of younger eggs (0–2 d) revealed a mortality of 13.3% (5.6; 34.7) and the control group of the older eggs (4–6 d) a mortality of 3.3% (0.1; 17.2). For young eggs (0–2 d), the effect of the treatment was significant compared to the control group (Fisher's exact test; eggs 0–2 d: $p < 0.001$; eggs 4–6 d: n.s.). The state of incomplete hatch was not included to the mortality of eggs, as the hatching process and the fitness of the first

instar can be influenced by other factors, not only the treatment. Figure 6 shows a comparison of the differences in the hatch rates of younger and older plasma-treated eggs compared to their respective reference groups.

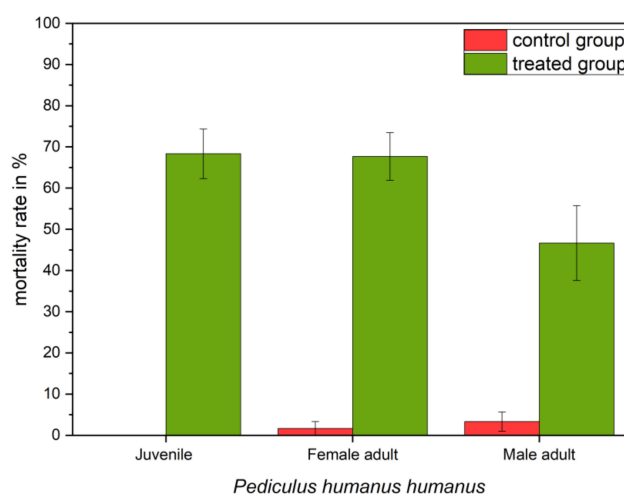


Figure 5. Mortality after one single transition of the PlaCo device through a 22-cm hairpiece, comparing the effect of developmental stage and sex on the effectivity of the treatment. The damage of the individuals was assessed 16 h after their last feeding.

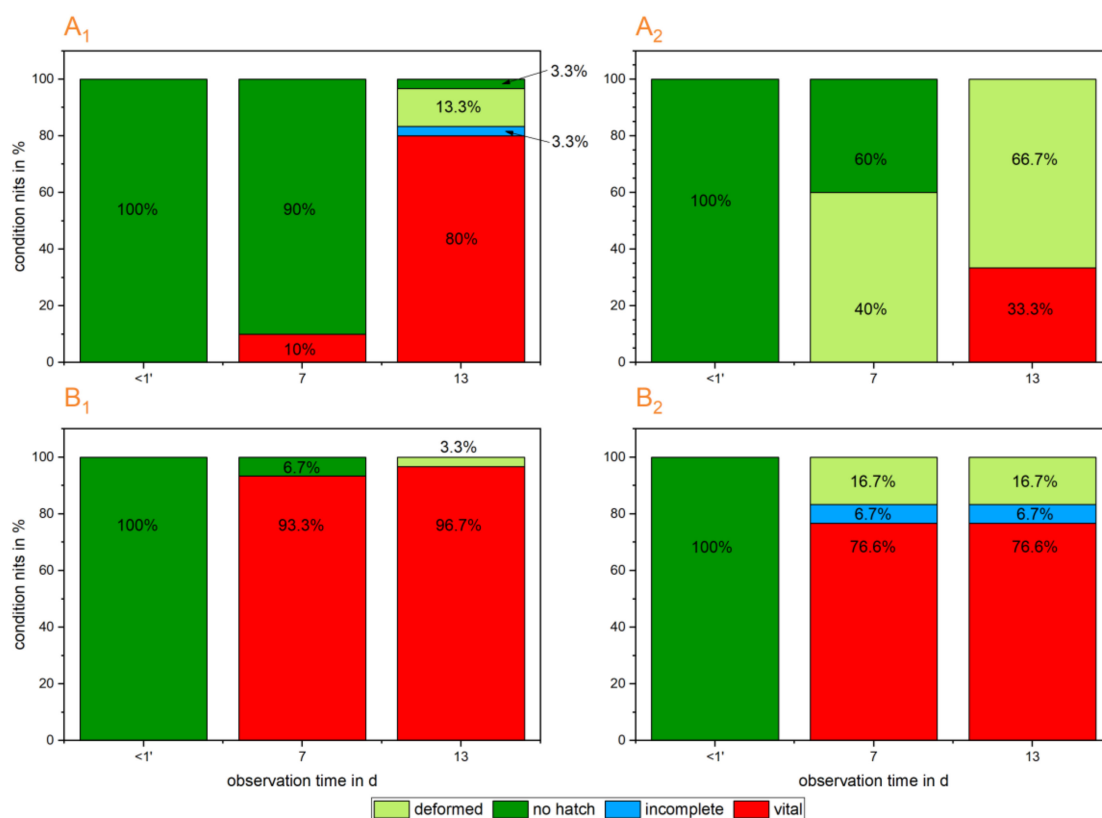


Figure 6. Depicted are the hatch rates of 0–2 d old eggs (A₁: ref. group; A₂: treated group) and the hatch rates of 4–6 d old eggs (B₁: ref. group; B₂: treated group). The assessment of the egg development considers different states. These are: **no hatch**: intact egg, no hatch occurred; **deformed**: deformed egg, no hatch occurred; **incomplete**: partially hatch occurred, juveniles opened the operculum and started moving out of the egg but did not finish the procedure; **vital**: embryonal development and hatch complete.

3.2. Temperature Measurement

The calculation of the temperatures resulting from the comparison of simulated with measured spectra, as presented in Section 3.1, resulted in temperatures as presented in the following (Table 3).

Table 3. Rotational, vibrational, and electron temperature and reduced electric field strength as determined by optical emission spectroscopy (OES).

	Values
Mean rotational temperature, $T_{\text{rot, mean}}$	595 ± 50 K
Max. rotational temperature, $T_{\text{rot, max}}$	660 ± 50 K
Vibrational Temperature, T_{vib}	4110 ± 612 K
Reduced Electric Field, E_R	209 ± 12 Td
Mean Electron Energy, ϵ	5.5 ± 0.2 eV
Electron Temperature, T_e	$42.7 \times 10^3 \pm 1.8 \times 10^3$ K

3.3. Safety Assessment

To pose not only a user-friendly but also healthy and nontoxic treatment method and to ensure user safety, plasma devices for medical applications have to be assessed to determine occurring concentrations of ozone and the emitted UV light as well as for occurring patient leakage currents. In the following subsections, measurement results and calculations of these potential health risks are presented.

3.3.1. Ozone Concentration Measurements

As depicted in Table 4, the ozone limits as introduced by OSHA and COSHH were met when the plasma comb was operated on a human head measured in a distance of 10 cm (average distance from hairline to tip of the nose). The ozone concentrations measured at this distance satisfied the limits of OSHA by a factor of 0.59, and the COSHH limits were met by factor 0.89. Figure 7 displays the decreasing ozone concentrations with regard to the sampling distance.

Table 4. Ozone concentration during application of the plasma comb measured in three different distances.

Nozzle Distance	Median O ₃ Conc./ppb	OSHA Multiple	COSHH Multiple
0 cm	5729.35	$\approx 17.6 \times$	$\approx 26.4 \times$
1 cm	335.35	$\approx 2.25 \times$	$\approx 3.4 \times$
10 cm	127.7	$\approx 0.59 \times$	$\approx 0.89 \times$

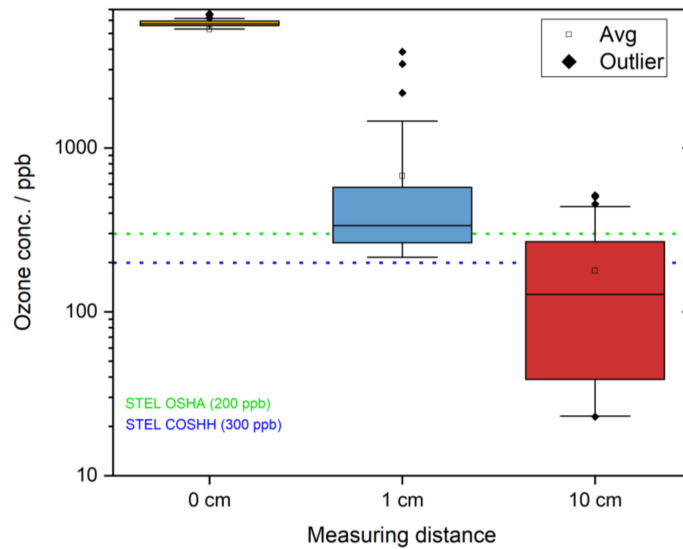


Figure 7. Box plot of ozone concentrations measured at three different distances of the plasma source (logarithmic scaling).

3.3.2. UV Emissivity of Plasma Comb

The calculation of the reciprocal SMCF depends on the wavelength range considered. The wavelength range was limited from 250 to 400 nm. Below 250 nm, only the relative spectral effectiveness $S(\lambda)$ was significantly different from zero, which is why none of the calculations yielded significant contributions to the summations in (2). Above 400 nm, both weighting functions, $S(\lambda)$ and $Z(\lambda)$, were almost zero, leading to possible neglect to summations above this threshold.

The measurement with the UV-3719-4a(Z) detector revealed an uncorrected irradiance of $E_{meas} = 1.57 \text{ mW m}^{-2}$. The calculation of the SMCF was necessary to correct this value such that it reflected the effective intensity to which human skin is exposed. The calculation presented in Section 2.3.2 used the spectral data given in Figures 8 and 9. The reciprocal SMCF for the PlaCo device could be calculated to a value of $a^* = 1.77$. The correction led to an effective irradiance of $E_{eff} = 0.89 \text{ mW m}^{-2}$, which translated to a maximum exposure duration of $t_{max} = 9.3 \text{ h}$.

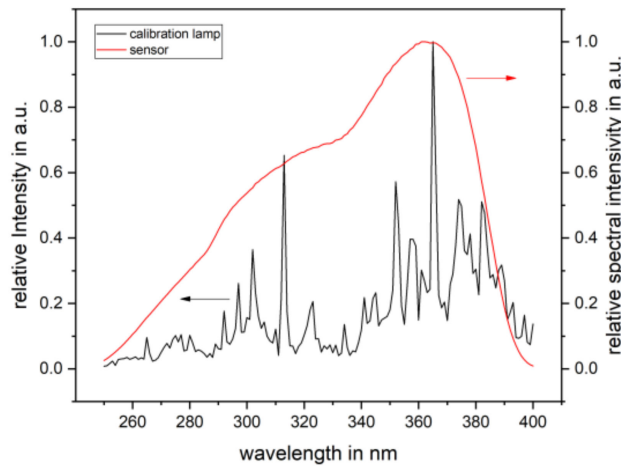


Figure 8. $E_{cal,\lambda}$, relative irradiance of the calibration lamp (black), and $Z(\lambda)$, relative spectral sensitivity of the UV-3719-4a(Z) detector head (red).

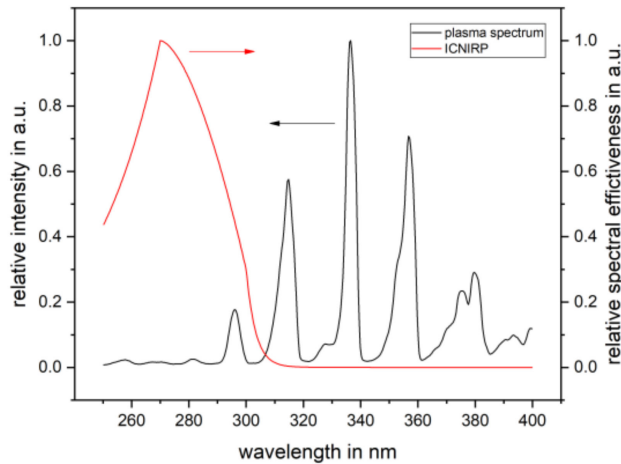


Figure 9. E_{λ} , relative irradiance of the PlaCo device (black), and $S(\lambda)$, relative spectral effectiveness calculated according to [21] (red).

3.3.3. Patient Leakage Current Assessment

The measurement of the patient leakage current performed on two different materials (mammal flesh and aluminum) and following DIN EN 60601-1 revealed patient leakage currents as depicted in Figure 10.

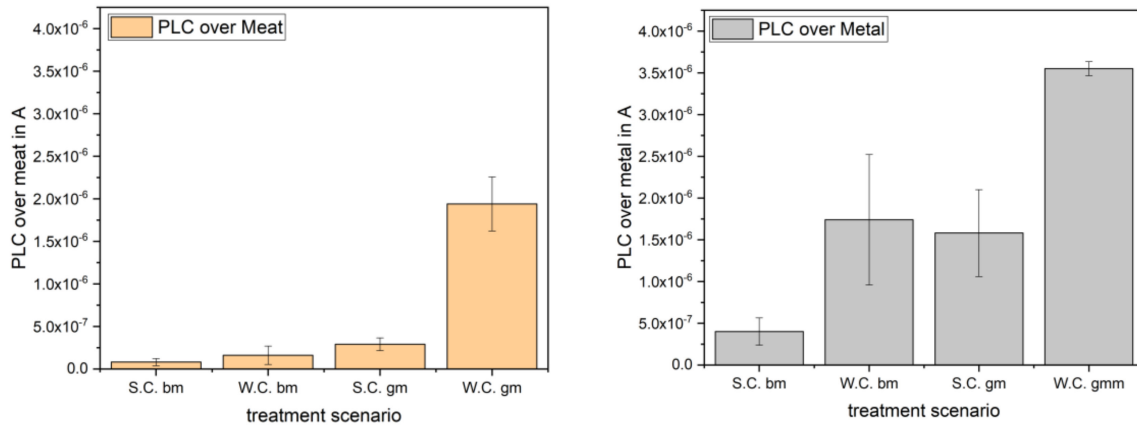


Figure 10. Two different materials were measured resembling the surface of the scalp. The left diagram gives the results for the meat electrode, and the right side depicts the results for the metal surface. S.C. is the standard case; no electrode prongs touched the “scalp”. W.C. stands for worst case; here, all prongs of one half of the device were touching the “scalp” (no plasma was igniting). The abbreviations for bm and gm stand for battery mode and grounded mode, respectively (compare Section 2.3.3).

Following the norm for PLC measurement, the currents during the normal case must not be higher than 100 μ A. The measured currents fell below this limit by a factor of more than 25 \times . The occurring currents lay well below the perception threshold of approx. 30 mA (at approx. 240 kHz), as studied by Chatterjee et al. [35].

4. Discussion

As the spectroscopic measurements revealed a rotational temperature of the filaments of the plasma of approx. 550 to 700 K, these temperatures seem quite hot at first, especially when considering $T_{\text{rot}} \approx T_{\text{gas}}$. It should be noted that these temperatures rise over a very short period of time, as the filaments show an estimated lifetime of a few 100 ns [36,37] when excited using 16 kVpp at 245 kHz in a 2 mm gap. When regarding the lifetime of the 0–0 vibrational transition of the second positive system ($\text{C}^3\Pi_u - \text{B}^3\Pi_g$) of nitrogen, determining the rotational temperature this time even reduces to 37 ns [28]. Considering these short filament lifetimes, although assuming $T_{\text{rot}} \cong T_{\text{gas}}$ following [38], an effective heating of tissue and hair material is considered negligible. Furthermore, the filament temperatures, that is, the small heated gas volumes, decline to room temperature within some milliseconds by heat energy transfer to the surrounding neutral gas. This reflects in the almost imperceptible application of the PlaCo on human skin. All measured and subsequently calculated temperatures are displayed in Table 3.

The damage pattern of affected lice and the mortality of juvenile and adult lice and their eggs after a single stroke on human hair with the speed of 2 cm/s or 1 s, respectively, clearly show the efficacy a CAPP produced using the PlaCo device against *P. humanus humanus* in the given conditions. The intensive water loss of the mobile lice when subjected to the plasma treatment also occurred in other insects after plasma treatment [39]. The observed deformations of the lice after a plasma treatment are not known from other chemical or physical treatment procedures to control head lice or other insects of significance to health. A transferability of the results is expected as *P. humanus humanus* is known as an approved surrogate for efficacy studies under laboratory conditions, as mentioned in Section 2.1.

The efficacy of the device when applied for a single transition was determined to be up to approx. 68%. After the treatment of the eggs, approx. 66% of the younger eggs (0–2 d) could be killed within 1 s of treatment time, whereas the older eggs were only affected on a very low level. The deactivation rates for the eggs differ strongly depending on the age of the eggs. A similar effect is known from standard chemical pediculicides, where older eggs also demonstrate a higher resilience. Considering that this

was a forced test, a simulated-use test on hair strands with a higher number of eggs is necessary to estimate the efficacy against eggs in more practical conditions. The eggs have only a small size of about 0.8 mm in length and a smaller width, so the position of the egg according to the plasma might influence the effect to the egg. A small size effect could also be possible in first instar juvenile lice with a size of about 0.8–1.0 mm. These smallest stages also should be included in the simulated-use tests. Considering the given results of the eggs, at minimum, one repetitive complete treatment will be necessary at this point after 8–10 days when applying the PlaCo in a real-life situation.

We want to point out again that the presented results were obtained in conditions of a horizontal test on a flat surface using a relatively small amount of hair. An inactivation rate of 100% was not achieved using the presented test conditions. When, for example, integrated as a combing procedure during a “standard” morning routine of showering, washing, styling hair, etc., the combing process is characterized by a significantly higher amount of combing strokes ($>>1$). When hypothetically estimating a constant killing rate per stroke of approx. 70%, a killing rate of 99.9% could be achieved after six strokes per strand. When assuming a combing procedure of 10 min repeated in sets of three over a complete day, the necessary killing rate of 100% seems achievable.

A systematic clinical investigation taking into account a larger volume of hair, the natural contour of a human head, and a large number of combing strokes is saved for future work.

The currently presented safety assessment focused on the three main components that arose from the occurring ozone, UV radiation, and currents that flowed over the treated person to ground potential. The ozone concentration showed very high concentrations, especially when measured at its point of origination (see Figure 7). When increasing the distance from the sampling point to the source successively, the ozone concentration decreased. When measured in a relevant distance (i.e., the forehead/temple-to-nose distance), the OSHA and COSHH limits were met, leading to a possible treatment time of more than 15 min. Nonetheless, ozone concentrations subsequent to treatment can be detected by the user and can lead to an unpleasant odor perception of the treatment. A reduction of these emerging ozone concentrations should therefore be considered during future developmental adjustments of the device.

Further gases, like various forms of nitrogen oxides (NO_x), might occur during a plasma treatment but were not under investigation within this study. As the processes of ozone and nitrogen oxide generation are contending processes [37,40], NO_x gases are not expected to exceed the amount of occurring ozone. When aiming at a possible market launch of plasma devices for use on humans, all occurring reactive gases should be validated.

The occurring UV intensities were measured and showed an effective irradiance of $E_{\text{eff}} = 0.89 \text{ mW m}^{-2}$. This irradiance determined a maximum possible treatment time of 9.3 h, which exceeded the limiting factor of the ozone concentration by far.

The occurring PLCs emitted during a standard treatment were negligible, as depicted in Figure 10, even when considering the worst-case scenarios using a grounded reference potential.

5. Conclusions

Considering the results concerning efficacy and safety of the presented plasma device, the high potential of this source can well be demonstrated. Here, studies were conducted concerning the effect of the PlaCo device on the hair material investigating possible negative effects. The occurring UV radiation, ozone concentration, and occurring patient leakage currents fell below the thresholds given by different organizations and norms. When considering the 10-cm thresholds for ozone concentrations to be the “worst case”, the maximum possible treatment times using the presented PlaCo device might even be greater than the calculated 15 min. When aiming at bringing the device into the market the ozone concentrations should be assessed again as well as possibly occurring NO_x concentrations, considering the variable experimental conditions. Based on the presented results, treatment times of more than 10 min for a complete adult head seem unnecessary. Further enhancements of the PlaCo device should consider a reduction of the occurring ozone concentrations and a further enhancement

of the electrode configuration. Here, a spread of the electrode rows in different distances from the scalp, giving a better performance within three dimensions, might enhance its performance further.

The presented method may be developed into an effective and promising alternative approach to chemical treatment agents. The possibility for total omission of pediculicides with pharmacological mode of action might even reveal positive effects concerning skin health, as the chemical agents in use tend to induce post-treatment skin irritation for a recognizable period of time. The symptoms occurring after a severe infestation of head lice such as dandruff, eczema, etc., might even be mitigated by the plasma itself.

Author Contributions: Conceptualization, L.t.B.; Methodology, L.t.B.; Validation, all authors; Formal Analysis, L.t.B., B.H. (Lice assessment), D.S. (UV-assessment), J.M. (Spectroscopic assessment); Investigation, L.t.B. (all), B.H. (lice assessment), D.S. (UV-assessment), J.M. (Spectroscopic assessment); Resources, B.H., W.V.; Data Curation, L.t.B., B.H., D.S., J.M.; Writing-Original Draft Preparation, L.t.B.; Writing-Review & Editing, all authors; Visualization, L.t.B.; Supervision, L.t.B., W.V.; Project Administration, L.t.B.; Funding Acquisition, W.V.

Funding: This research was funded by the German Federal Ministry of Science and Culture via the Niedersächsisches Vorab: Volkswagen Stiftung (grant no. ZN 2779). The support within the joint research focus project is gratefully acknowledged.

Acknowledgments: The authors would like to thank all colleagues involved.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, and in the decision to publish the results.

References

1. Habedank, B. Läuse—Biologie, medizinische Bedeutung und Bekämpfung. In *In Sick through Arthropods*; Austrian Museal Publisher: Vienna, Austria, 2010; Volume 30, pp. 191–212. Available online: https://www.zobodat.at/pdf/DENISIA_0030_0191-0212.pdf (accessed on 12 November 2018).
2. Habedank, B. Kopflausmittel mit Tilgungswirkung für den Infektionsschutz. In *UMID Umw Gesundh. Umweltmed. Verbraucherschutz*; Umweltbundesamt Corrensplatz: Berlin, Germany, 2017; Volume 26, pp. 31–35. Available online: https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/360/publikationen/umid_01_2017_05.pdf (accessed on 12 November 2018).
3. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. Bekanntmachung der geprüften und anerkannten Mittel und Verfahren zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen nach §18 Infektionsschutzgesetz. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* **2016**, *59*, 690–701. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Durand, R.; Bouvresse, S.; Berdjane, Z.; Izri, A.; Chosidow, O.; Clark, J.M. Insecticide resistance in head lice: Clinical, parasitological and genetic aspects. *Clin. Microbiol. Infect.* **2012**, *18*, 338–344. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Durand, R.; Bouvresse, S.; Andriantsoanirina, V.; Berdjane, Z.; Chosidow, O.; Izri, A. High Frequency of Mutations Associated with Head Lice Pyrethroid Resistance in Schoolchildren from Bobigny, France. *J. Med. Entomol.* **2011**, *48*, 73–75. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Hünnekens, B.; Avramidis, G.; Ohms, G.; Krause, A.; Viöl, W.; Militz, H. Impact of plasma treatment under atmospheric pressure on surface chemistry and surface morphology of extruded and injection-molded wood-polymer composites (WPC). *Appl. Surf. Sci.* **2018**, *441*, 564–574. [[CrossRef](#)]
7. Wascher, R.; Schulze, N.; Avramidis, G.; Militz, H.; Viöl, W. Increasing the water uptake of wood veneers through plasma treatment at atmospheric pressure. *Eur. J. Wood Prod.* **2014**, *72*, 685–687. [[CrossRef](#)]
8. Wolkenhauer, A.; Avramidis, G.; Hauswald, E.; Militz, H.; Viöl, W. Sanding vs. plasma treatment of aged wood: A comparison with respect to surface energy. *Int. J. Adhes. Adhes.* **2009**, *29*, 18–22. [[CrossRef](#)]
9. Gerhard, C.; ten Bosch, L. Plasma jet cleaning of optics. *Vak. Forsch. Prax.* **2018**, *30*, 32–35. [[CrossRef](#)]
10. Bónová, L.; Zahoranová, A.; Kováčik, D.; Zahoran, M.; Mičušík, M.; Černák, M. Atmospheric pressure plasma treatment of flat aluminum surface. *Appl. Surf. Sci.* **2015**, *331*, 79–86. [[CrossRef](#)]
11. Wandke, D.; Schulze, M.; Klingner, S.; Helmke, A.; Viöl, W. “3-in-1” Plasma Wire System. *Surf. Coat. Technol.* **2005**, *200*, 700–703. [[CrossRef](#)]
12. Fridman, A.A.; Friedman, G.G. *Plasma Medicine*; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 2013.
13. Kong, M.G.; Kroesen, G.; Morfill, G.; Nosenko, T.; Shimizu, T.; van Dijk, J.; Zimmermann, J.L. Plasma medicine: An introductory review. *New J. Phys.* **2009**, *11*, 115012. [[CrossRef](#)]

14. Metelmann, H.-R.; Woedtke, T.; von Weltmann, K.-D. *Comprehensive Clinical Plasma Medicine*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2018.
15. Emmert, S.; Brehmer, F.; Hänßle, H.; Helmke, A.; Mertens, N.; Ahmed, R.; Simon, D.; Wandke, D.; Maus-Friedrichs, W.; Däschlein, G.; et al. Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clin. Plasma Med.* **2013**, *1*, 24–29. [[CrossRef](#)]
16. Holcomb, J.D.; Kent, K.J.; Rouso, D.E. Nitrogen plasma skin regeneration and aesthetic facial surgery: Multicenter evaluation of concurrent treatment. *Arch. Facial Plast. Surg.* **2009**, *11*, 184–193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Metelmann, H.-R.; Vu, T.T.; Do, H.T.; Le, T.N.B.; Hoang, T.H.A.; Phi, T.T.T.; Luong, T.M.L.; van Doan, T.; Nguyen, T.T.H.; Nguyen, T.H.M.; et al. Scar formation of laser skin lesions after cold atmospheric pressure plasma (CAP) treatment: A clinical long term observation. *Clin. Plasma Med.* **2013**, *1*, 30–35. [[CrossRef](#)]
18. Isbary, G.; Morfill, G.; Zimmermann, J.; Shimizu, T.; Stolz, W. Cold atmospheric plasma: A successful treatment of lesions in Hailey-Hailey disease. *Arch. Dermatol.* **2011**, *147*, 388–390. [[CrossRef](#)]
19. Dubuc, A.; Monsarrat, P.; Virard, F.; Merbahi, N.; Sarrette, J.-P.; Laurencin-Dalieux, S.; Cousty, S. Use of cold-atmospheric plasma in oncology: A concise systematic review. *Ther. Adv. Med. Oncol.* **2018**, *10*. [[CrossRef](#)]
20. Fridman, G.; Shereshevsky, A.; Jost, M.M.; Brooks, A.D.; Fridman, A.; Gutsol, A.; Vasilets, V.; Friedman, G. Floating Electrode Dielectric Barrier Discharge Plasma in Air Promoting Apoptotic Behavior in Melanoma Skin Cancer Cell Lines. *Plasma Chem. Plasma Process.* **2007**, *27*, 163–176. [[CrossRef](#)]
21. Guerrero-Preston, R.; Ogawa, T.; Uemura, M.; Shumilinsky, G.; Valle, B.L.; Pirini, F.; Ravi, R.; Sidransky, D.; Keidar, M.; Trink, B. Cold atmospheric plasma treatment selectively targets head and neck squamous cell carcinoma cells. *Int. J. Mol. Med.* **2014**, *34*, 941–946. [[CrossRef](#)]
22. E35 Committee. *Test Method for Effectiveness of Liquid, Gel, Cream, or Shampoo Insecticides Against Adult Human Lice*; ASTM International: West Conshohocken, PA, USA, 2017.
23. Gallardo, A.; Mougabure Cueto, G.; Picollo, M.I. Pediculus humanus capitis (head lice) and Pediculus humanus humanus (body lice): Response to laboratory temperature and humidity and susceptibility to monoterpenoids. *Parasitol. Res.* **2009**, *105*, 163–167. [[CrossRef](#)]
24. Peters, F.; Hünnekens, B.; Wieneke, S.; Miltz, H.; Ohms, G.; Viöl, W. Comparison of three dielectric barrier discharges regarding their physical characteristics and influence on the adhesion properties on maple, high density fiberboards and wood plastic composite. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2017**, *50*. [[CrossRef](#)]
25. Helmke, A.; Wandke, D.; Mahmoodzada, M.; Weltmann, K.-D.; Viöl, W. Impact of Electrode Design, Supply Voltage and Interelectrode Distance on Safety Aspects and Characteristics of a Medical DBD Plasma Source. *Contrib. Plasma Phys.* **2013**, *53*, 623–638. [[CrossRef](#)]
26. Peters, F.; Hünnekens, B.; Wieneke, S.; Miltz, H.; Ohms, G.; Viöl, W. Corrigendum: Comparison of three dielectric barrier discharges regarding their physical characteristics and influence on the adhesion properties of maple, high density fiberboard and wood plastic composite (2017 *J. Phys. D Appl. Phys.* 50 475206). *J. Phys. D Appl. Phys.* **2018**, *51*. [[CrossRef](#)]
27. Paris, P.; Aints, M.; Valk, F.; Plank, T.; Haljaste, A.; Kozlov, K.V.; Wagner, H.-E. Intensity ratio of spectral bands of nitrogen as a measure of electric field strength in plasmas. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2005**, *38*, 3894–3899. [[CrossRef](#)]
28. Pancheshnyi, S. Comments on ‘Intensity ratio of spectral bands of nitrogen as a measure of electric field strength in plasmas’. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2006**, *39*, 1708–1710. [[CrossRef](#)]
29. Paris, P.; Aints, M.; Valk, F.; Plank, T.; Haljaste, A.; Kozlov, K.V.; Wagner, H.-E. Reply to comments on ‘Intensity ratio of spectral bands of nitrogen as a measure of electric field strength in plasmas’. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2006**, *39*, 2636–2639. [[CrossRef](#)]
30. Eliasson, B.; Hirth, M.; Kogelschatz, U. Ozone synthesis from oxygen in dielectric barrier discharges. *J. Phys. D Appl. Phys.* **1987**, *20*, 1421–1437. [[CrossRef](#)]
31. Yagi, S.; Tanaka, M. Mechanism of ozone generation in air-fed ozonisers. *J. Phys. D Appl. Phys.* **1979**, *12*, 1509–1520. [[CrossRef](#)]
32. Health and Safety Executive. *EH40—Update to EH40/2005 Workplace Exposure Limits*; Health and Safety Executive: Bootle, UK, 2018.

33. CIE International Commission on Illumination. *Characterization of the Performance of Illuminance Meters and Luminance Meters*; (CIE S 023/E:2013), 17.180.20 (19476:2014); International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2014.
34. Guidelines on limits of exposure to ultraviolet radiation of wavelength between 180 nm and 400 nm (incoherent optical radiation). *Health Phys.* **2004**, *87*, 171–186. [[CrossRef](#)]
35. Chatterjee, I.; Wu, D.; Gandhi, O.P. Human body impedance and threshold currents for perception and pain for contact hazard analysis in the VLF-MF band. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1986**, *33*, 486–494. [[CrossRef](#)]
36. Küchler, A. *Hochspannungstechnik: Grundlagen—Technologie—Anwendungen*, 2nd ed.; Springer: Berlin, Germany, 2005.
37. Kogelschatz, U. Dielectric-barrier discharges their history discharge physics and industrial applications. *Plasma Chem. Plasma Process.* **2003**, *23*, 1–46. [[CrossRef](#)]
38. Bruggeman, P.J.; Sadeghi, N.; Schram, D.C.; Linss, V. Gas temperature determination from rotational lines in non-equilibrium plasmas: A review. *Plasma Sources Sci. Technol.* **2014**, *23*, 23001. [[CrossRef](#)]
39. Donohue, K.V.; Bures, B.L.; Bourham, M.A.; Roe, R.M. Mode of action of a novel nonchemical method of insect control: Atmospheric pressure plasma discharge. *J. Econ. Entomol.* **2006**, *99*, 38–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Andrews, T.; Tait, P.G. On the Volumetric Relations of Ozone, and the Action of the Electrical Discharge on Oxygen and Other Gases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* **1860**, *150*, 113–131. [[CrossRef](#)]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Erratum: ten Bosch et al. Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb—A Physical Approach for Pediculosis Treatment

Lars ten Bosch ^{1,*}, Birgit Habedank ², Dominik Siebert ¹, Julia Mrotzek ¹ and Wolfgang Viöl ¹

¹ Faculty N, University of Applied Sciences and Arts HAWK, Von-Ossietzky-Strasse 99/100, 37085 Göttingen, Germany; dominik.siebert@hawk.de (D.S.); julia.mrotzek@hawk.de (J.M.); wolfgang.vioel@hawk.de (W.V.)

² German Environment Agency, Corrensplatz 1, 14195 Berlin, Germany; birgit.habedank@uba.de

* Correspondence: lars.bosch@hawk.de; Tel.: +49-512-188-1264

Received: 27 September 2019; Accepted: 10 December 2019; Published: 9 January 2020

Due to an error during production and a corrupted data set, Section 1 in the result section of the published paper [1] was displaying incorrect data. A corrected version of the section is provided below.

Importantly, these changes do not modify the significance and the related conclusions in any way. The authors would like to apologize for any inconvenience to the readers caused by this error.

1. Ozone Concentration Measurements

As depicted in Table 1, the ozone limits as introduced by OSHA and COSHH were met when the plasma comb was operated on a human head measured in a distance of 10 cm (average distance from hairline to tip of the nose). The ozone concentrations measured at this distance satisfied the limits of OSHA by a factor of 0.01, and the COSHH limits were met by factor 0.015. Figure 1 displays the decreasing ozone

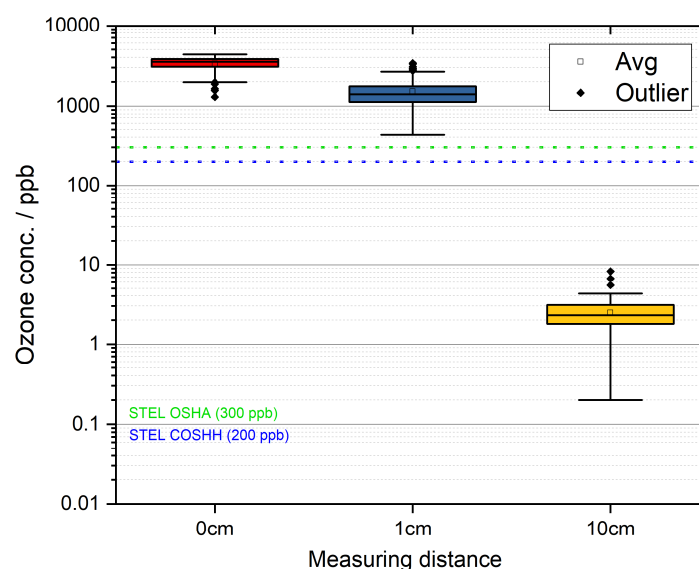


Figure 1. Box plot of ozone concentrations measured at three different distances of the plasma source (logarithmic scaling).

Table 1. Ozone concentration during application of the plasma comb measured in three different distances.

Nozzle Distance	Median O ₃ Conc./ppb	OSHA Multiple	COSHH Multiple
0 cm	3348	≈11.2×	≈16.7×
1 cm	1562	≈5.2×	≈7.8×
10 cm	2.6	≈0.01×	≈0.015×

Reference

1. Ten Bosch, L.; Habedank, B.; Siebert, D.; Mrotzek, J.; Viöl, W. Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb-A Physical Approach for Pediculosis Treatment. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2018**, *16*, 19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Erläuterungen zu den AutorInnen

Erklärung zu den Author Contributions der in der kumulativen Dissertation von Lars ten Bosch angeführten Veröffentlichung:

Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb — A Physical Approach for Pediculosis Treatment

AutorInnen: Lars ten Bosch, Birgit Habedank, Dominik Siebert, Julia Mrotzek, Wolfgang Viöl

Journal: International Journal of Environmental Research and Public Health; 2019; 16(1), 19;

doi: 10.3390/ijerph16010019 (Web of Science Impact Factor: 2.468 (2019))

Ideen, Entwürfe, Planungen und Durchführungen zu den in dieser Veröffentlichung präsentierten Untersuchungen liegen bis auf die im Folgenden genannten Ergänzungen vollständig bei Herrn Lars ten Bosch.

a. Untersuchungen zur Wirksamkeit des Läusekamms

Mitwirkende Dr. Birgit Habedank

Die Durchführung der Versuche zur Wirksamkeitsstudie fanden im Umwelt-Bundesamt in Berlin unter Begleitung von Frau Dr. Habedank vollständig von Hand des Herrn Lars ten Bosch statt. Die zum Einsatz kommenden Proben (Läuse, Eier) sowie Geräte (Lichtmikroskope, Wärmeschränke etc.) wurden hierfür von Frau Dr. Habedank zur Verfügung gestellt. Aufgrund der hohen Probenanzahl unterstützte Frau Dr. Habedank die Auszählung (Lebend-Tot) der behandelten Tiere und Eier.

b. Untersuchungen zur Temperaturbestimmung des Plasmaläusekamms

Mitwirkende: Frau Julia Mrotzek

Herr Lars ten Bosch entwarf nach grundlegendem Austausch zu seinem Vorhaben (Vermessung der Plasmaquelle bzgl. entstehender Plasmatemperaturen) Versuchsanordnung sowie –Ablauf in Gänze. Die Durchführung der Messung wurde mittels des verwendeten Analysegeräts (Spektrometer: Aryelle-Butterfly 400; LTB Lasertechnik Berlin GmbH, Berlin, Germany) von Herrn Lars ten Bosch unter Begleitung von Frau Mrotzek durchgeführt. Frau Mrotzek und Herr Lars ten Bosch nahmen die Gegenüberstellung der aufgenommenen Spektren mit vorhandenen Datenbanken simulierter Spektren vor. Die Auswahl der zur Analyse gewählten Wellenlängenbereiche sowie die Diskussion im Kontext der zum Vergleich herangezogenen veröffentlichten Literaturquellen fand hierbei, ebenso wie die Darstellung der Ergebnisse in genannter Veröffentlichung, gemeinsam statt.

c. Untersuchungen zum Risk Assesment des Plasmaläusekamms

Die Arbeiten zur Planung sowie Durchführung und Auswertung der zum Risk Assesment gehörenden Versuchsreihen (Bestimmung der Ozonkonzentration, der UV-Emissivität sowie der auftretenden Patientenableitströme) führte Herr Lars ten Bosch allumfänglich durch.

Mitwirkender: Dominik Siebert

Herr Dominik Siebert stand für Diskussionen bei der Einordnung der Ergebnisse aus den UV-Messungen zur Verfügung und unterstützte die Erstellung der entsprechenden Abschnitte in der Veröffentlichung.

Mitwirkender: Prof. Dr. Wolfgang Viöl

Prof. Dr. Wolfgang Viöl oblag die generelle Supervision und die wissenschaftliche Leitung des Projekts: „Plasmagestützte Schädlingsbekämpfung im Alltag“ (Projekt-Nr. ZN 2779 und ZN 2872), in dessen Rahmen die präsentierten Untersuchungen stattfanden. Darüber hinaus stellte Prof. Dr. Wolfgang Viöl

die zur Durchführung der Versuche notwendigen Mittel und Infrastruktur zur Verfügung und unterstützte die Diskussion der Ergebnisse.

Alle weiteren Arbeiten, wie z.B. die Anfertigung des Texts, der Grafiken und Abbildungen zur Veröffentlichung sowie die Interpretation und Diskussion der Ergebnisse im Kontext der genannten Literatur lagen vollständig bei Herrn Lars ten Bosch. Die dargestellten Ergebnisse wurden von allen Autoren auf Plausibilität geprüft. Der veröffentlichte Text wurde von allen Mitautoren redigiert.

Die Anfertigung des im Nachgang erschienenen Erratums (doi:10.3390/ijerph17020450) sowie die hierbei durchgeführten Versuche, Auswertungen sowie die Darstellung der Ergebnisse fußen vollständig auf der Initiative und Durchführung Herrn Lars ten Boschs. Die genannten Mitautoren redigierten den entstandenen Text.

Weitere Untersuchungen zu möglichen Wirkmechanismen

Die in der vorherigen Veröffentlichung vorgestellten Ergebnisse, bzw. die Beobachtungen des Probenverhaltens im Lichtmikroskop gaben Anlass, möglichen Abtötungsmechanismen nachzugehen.. Die Anwendung kalter Atmosphärendruckplasmen zur Bekämpfen von Schadinsekten konnte, nicht nur innerhalb der hier präsentierten Studien, als sehr effektive Methode dargestellt werden. Darüber hinaus konnte am Beispiel des Plasmaläusekamms ebenfalls die Möglichkeit zum Betrieb einer solchen Plasmaquelle unter Aspekten der Anwendersicherheit demonstriert werden. Eine sichere Handhabung für Behandelnden wie Patienten stellt eine grundlegende Voraussetzung zur Generierung weiterer Daten und Erkenntnisse dar, wie sie bei weiteren Untersuchungen, z.B. im Rahmen klinischer Studien, erhoben werden müssen. Ein Aspekt, welcher bisher weitgehend vernachlässigt wurde, ist der zur erfolgreichen Abtötung der Insekten erforderliche Wirkmechanismus (WM). So basiert eine der frühen Ideen zum WM direkter Entladungen auf Insekten auf einer Schädigung der kutikulären Lipidschichten durch eine plasmainduzierte Lipidperoxidation, bzw. eine direkten Entfernung der oberflächlichen Lipide und der daraus resultierenden Dehydrierung der Schadorganismen. Dieser Mechanismus schien zunächst die beobachteten, Schadbilder der untersuchten Insekten, welche im Rahmen erster Wirksamkeitsstudien auftraten, zu erklären.

Weiterführende Untersuchungen, die unter Verwendung der aktuellen Version des Plasmaläusekamms gemacht werden konnten²³, zeigten, dass die verantwortlichen Effekte deutlich schneller auftreten.

Größer angelegte Studien, wie die unter Abs. 5.1 dargestellte, zeigten ein für Individuen der *Pediculus humanus h.* als spezifisch zu betrachtendes Schadbild nach erfolgter Plasmaexposition. Die Lichtmikroskopaufnahme Abb. 5.1 zeigt beispielhaft die für den Plasmaläusekamm typische Desikkation, welche sich bereits einige Stunden nach der Behandlung ausbildet.

Dieses Schadbild tritt bei der Verwendung klassischer Läusemittel ebenfalls, jedoch erst nach deutlich größeren Wartezeiten auf. Infolge dieser Beobachtung wurden weitere Untersuchungen zur Aufklärung des möglichen Wechselwirkungsmechanismus vorgenommen. Hierfür wurden Individuen des dritten Larvenstadiums der *Pediculus humanus h.* mittels einer Membranfütterung (Fütterung in Anlehnung

²³identischer Aufbau der Elektronik; angepasste Elektrodenkonfiguration; neu entworfene Gehäuseform (siehe Seite 47 sowie Veröffentlichung *Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb - A Physical Approach for Pediculosis Treatment*)

an Erkenntnisse aus [163, 164]) versorgt und anschließend einer 1 s anhaltenden, forcierten Behandlung ausgesetzt. Hierfür wurde die Tiere direkt in den Entladungsspalt und die hier auftretenden Filamente eingebracht. Im Anschluss ließen sich im Inneren der Tiere auftretende Rupturen bereits wenige Minuten nach der Behandlung beobachten, welche ein Austreten des Darminhalts nach sich zog. Innerhalb weniger Sekunden nach Eintreten der Ruptur stellte sich ein Schadbild ähnlich der Abb. 5.1 ein, wobei es sich um einen dynamischen Prozess handelt von welchem Abb. 5.1 die finale Ausprägung darstellt.

Es folgten weitere Studien zur genauen Lokalisierung der Ruptur. Hierfür wurden die tomographischen Analysemethoden *OCT* (Optische Kohärenzthomographie) sowie *SPIM*²⁴ (Lichtschnittmikroskopie) herangezogen.



Abbildung 5.1: Durch Plasmaexposition verursachtes Schadbild an drittem Larvenstadium der *Pediculus humanus h.*. Beobachtungszeit nach Behandlung: ca. 6 h. Es ist ein starkes Einfallen der Gliedmaßen sowie des Torsos zu verzeichnen. Eine Schädigung im Inneren der Laus verursachte das Austreten des Darminhalts in die Körperhöhle, zu erkennen an Bluteinlagerungen in Brust- und Beinbereichen (veröffentlicht in [140].)

²⁴Der hier verwendete Aufbau wurde realisiert von *G. Valentini*, *A. Bassi*, und *A. Candeo* und entspricht grundlegend dem in [165] von *Candeo et al.* verwendeten Aufbau

Zur Präparation der Proben für die *OCT*-Untersuchungen ²⁵ wurden die Läuse nach einer Membranfütterung einer forcierten Plasmabehandlung für eine Zeitdauer von 1 s – 10 s unterzogen. Die in Abb. 5.2 dargestellten Schnitte durch den Torso einer Laus zeigen die gut sichtbaren Organe einer unbehandelten adulten Laus. Das schlagende Herz des Individuums wird vor allem in einer Videoaufnahme deutlich sichtbar und ist hier nur als dunkler Fleck zu erkennen. Der verwendete *OCT* Aufbau arbeitet im nahinfraroten Bereich mit einer Zentralwellenlänge von 850 nm und einem FWHM von 50 nm (weitere Informationen in [166, 167]. Im

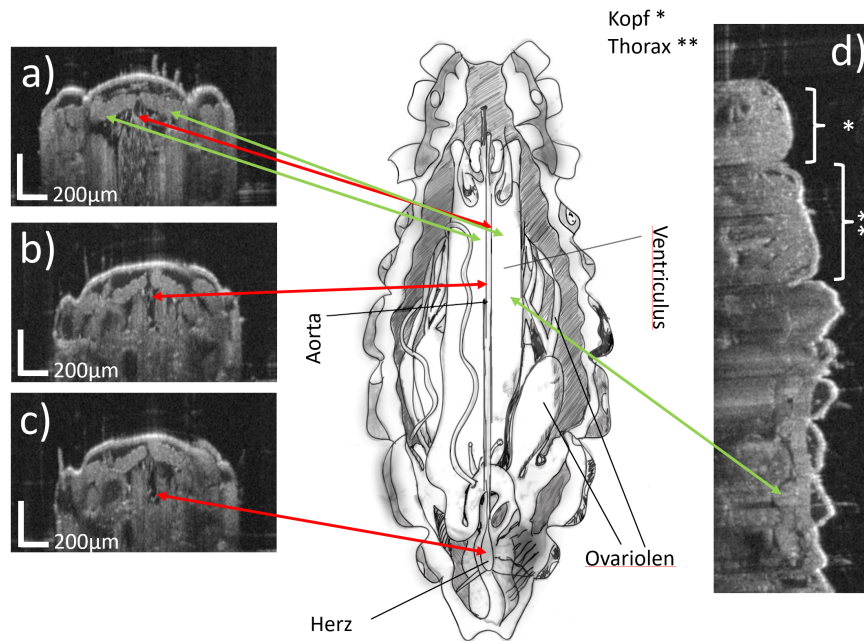


Abbildung 5.2: Vergleich der *OCT*-Scans einer intakten, unbehandelten Probe mit bekannten anatomischen Details (Handskizze Bildmitte in Anlehnung an [168]). Links: Bilder des dorsalen Bereichs einer Laus im Transversalschnitt (Zuordnung der Schnittebenen durch rote Pfeile.) Rechts: Sagittalschnitt (in linksseitiger Ansicht) des dorsalen Bereichs der selben Probe. Abbildung d) zeigt darüber hinaus in der linken Bildhälfte einige Artefakte in Linienform. Um einen umfassenderen Eindruck auch aus größeren Tiefen der Probe zu bekommen wäre eine Rotation der Probe sinnvoll, um bei der Bildrekonstruktion in Bezug auf unterschiedliche Artefakte eine Verbesserung der Darstellung zu erzielen. Auch Abb.a) weist in der unteren Bildhälfte einige Artefakte auf, deren Beseitigung bei der Darstellung der hier präsentierten Ergebnisse zur Machbarkeit nicht im Fokus stand.

Anschluss an die genannte Plasmaexposition zeigt sich bei Beobachtung der Probe nach einem Zeitraum von ca. 2 min im Live-*OCT*-Bild eine plötzliche Ruptur in

²⁵Die Daten zur Erstellung der Bildmaterialien der *OCT*-Scans wurden freundlicher Weise von Dr. Christian Schnabel, TU Dresden zur Verfügung gestellt.

Form eines Zuckens der gesamten Probe. Unter Aufzeigen von mit Abb. 5.1 vergleichbaren Schädigungen beginnt die Probe augenblicklich einzufallen. Ferner zeigt der austretende Darminhalt eine sofortige, starke Reduzierung des Bildkontrasts, wie in Abb. 5.3 dargestellt. Dieser Effekt zeigte sich als reproduzierbar bei allen untersuchten Proben. Das Auftreten der Ruptur schwankte hierbei in einem Zeitfenster weniger Minuten abhängig von der Behandlungsdauer bzw. Qualität der Behandlung. Durch die fehlende Unterscheidbarkeit der einzelnen Organe durch den austretenden Darminhalt wurden nachfolgend Untersuchungen mit einem *SPIM*-System durchgeführt. Da es sich hier um optisches Verfahren handelt, welches spezifische Wellenlängen zur Analyse des untersuchten Materials zugänglich macht (Möglichkeit zur Fluoreszenzanregung von Hämoglobin bzw. Chitin), wurde hier mit einer kontrastreichen Darstellung der betreffenden Region gerechnet.

Die Untersuchungen mittels *SPIM* wurden unter Verwendung einer Variante des bei [165] dargestellten Systems durchgeführt. Hierfür wurden die Proben direkt nach einer 1 s – 10 s andauernden Plasmaexposition, durch Verwendung des unter [140] gezeigten *Plasmaläusekamms*, in ca. 2 µl einer 1.5%-ige niedrigschmelzenden Agarose (Schmelzpunkt 37 °C) eingebettet. Hierzu wurde das zu präparierende Individuum mit der Agarose in einen UV-transparenten FEP-Schlauch²⁶ eingebracht. Die so fixierten Individuen wurden nun, jeweils einzeln, vertikal in den Strahlengang des Aufbaus eingebracht und für mehrere Minuten (bis zu 24 min) beobachtet. Die zur Fluoreszenzanregung verwendete Anregungswellenlänge lag bei 637 nm. Da zunächst, aufgrund des vergleichsweise großen Probendurchmessers (ca. 1 mm – 2 mm), ein nur ungenügender Kontrast bei den Scans zustande kam, wurden einzelne Individuen der *Pediculus humanus h.* im Folgenden mittels oben genannter Membranfütterungsmethode unter Zugabe des Farbstoffs *Nilblau*²⁷ mit einer Zielkonzentration von 0,4 mg ml⁻¹ präpariert. Hierfür wurde der Farbstoff zunächst in *Ethylenglycol* gelöst. Durch die Zugabe des Farbstoffs in das Fütterungsblut ergaben sich deutlich verbesserte Probenkontraste, da sich der Farbstoff offenbar bevorzugt an Membranen der inneren Organe der Läuse, anlagert. Dies wird auch im direkten Vergleich mit den mittels *OCT* gemachten Untersuchungen deutlich. Die so präparierten Proben zeigten eine deutlich verbesserte Darstellung anatomischer Details. Abb. 5.4 zeigt den Ausschnitt eine kurzen Bildfolge einer so präparierten Laus. Zu Zwecken der Anschaulichkeit wurden nur 24 Einzelbilder einer solchen

²⁶FEP Tubing 2mm ID x 3mm OD x 0.5mm Wandstärke der Firma *Adtech* Nummer: FT2X3

²⁷Nileblue 690 Perchlorate, von *Exiton* CAS-No.: 53340-16-2

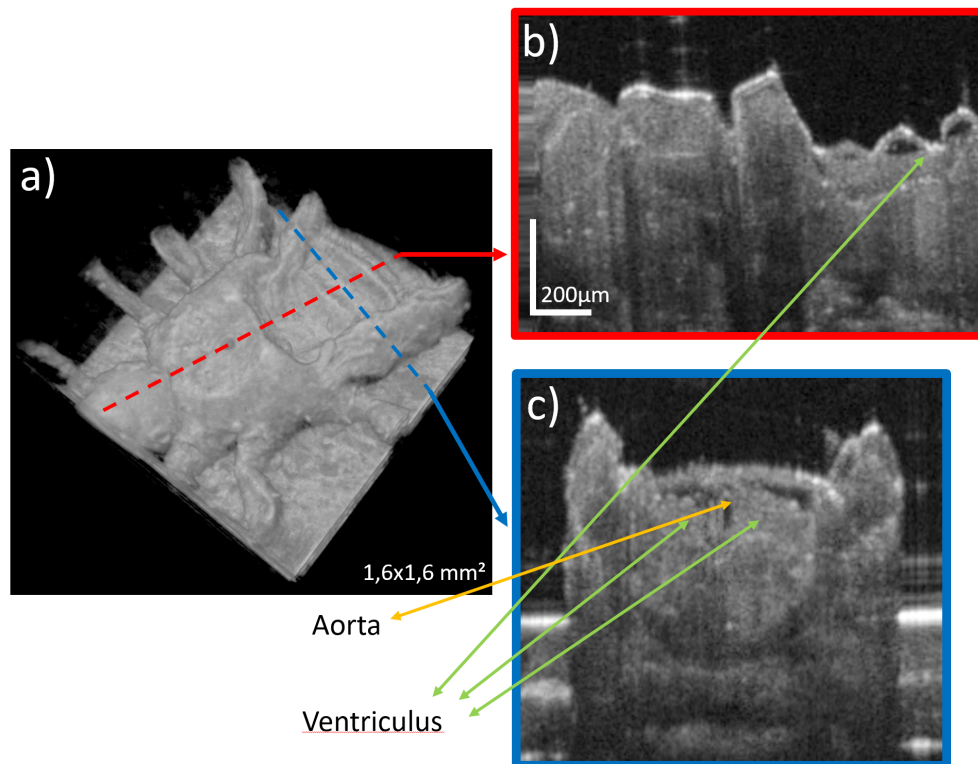


Abbildung 5.3: Bild a) zeigt linksseitig einen Abschnitt des Kopfes mittig den Thorax und rechtsseitig ein Drittel des Abdomens einer eingefallenen Laus nach erfolgter Plasmaexposition. Bild b) zeigt eine sagittale Schnittebene, welche entlang der rot gekennzeichneten Linie in a) verläuft. Bild c) zeigt den transversalen Schnitt welcher entlang der blauen Linie in a) verläuft. Im direkten Vergleich von Bild c) zu 5.2 a-c) wird klar ersichtlich wie der Kontrast der inneren Organe nach dem Eintritt des Rupturereignisses stark abgenommen hat. Eine Lokalisierung der Ruptur ist damit unmöglich. Auch hier weisen die Bilder b) und c) in der unteren Bildhälfte einige Artefakte auf (vergleiche Abb.5.2).

Scan-Sequenz dargestellt. Der gesamte Scan besteht aus 130 Einzelbildern, wobei die Probe mehrmals durchlaufen wird. Um die anatomischen Merkmale etwas besser herauszustellen, wurden zwei Einzelbilder aus der Scanreihe Abb. 5.4 in Abb. 5.5 vergrößert dargestellt. Hierbei fällt vor allem der schwankende Kontrast im Brust- und Darmbereich der Laus auf. Um das Innere der Laus besser zugänglich zu machen, sollen künftige Untersuchungen unter permanenter Probenrotation durchgeführt werden. Mit der SPIM-Technik lassen sich so bei einer deutlich erhöhten Bildrate von z.B. 60 Bilder/s höher aufgelöste dreidimensionale Bildkompositionen aufnehmen. Mit diesen kann durch Bildmaterial aus mehreren Ebenen des gleichen Probenpunkts im virtuell erzeugten 3D-Modell eine deutlich bessere Auflösung erzielt werden, da Abschattungen, wie hier durch die Beine im Brustbereich zu

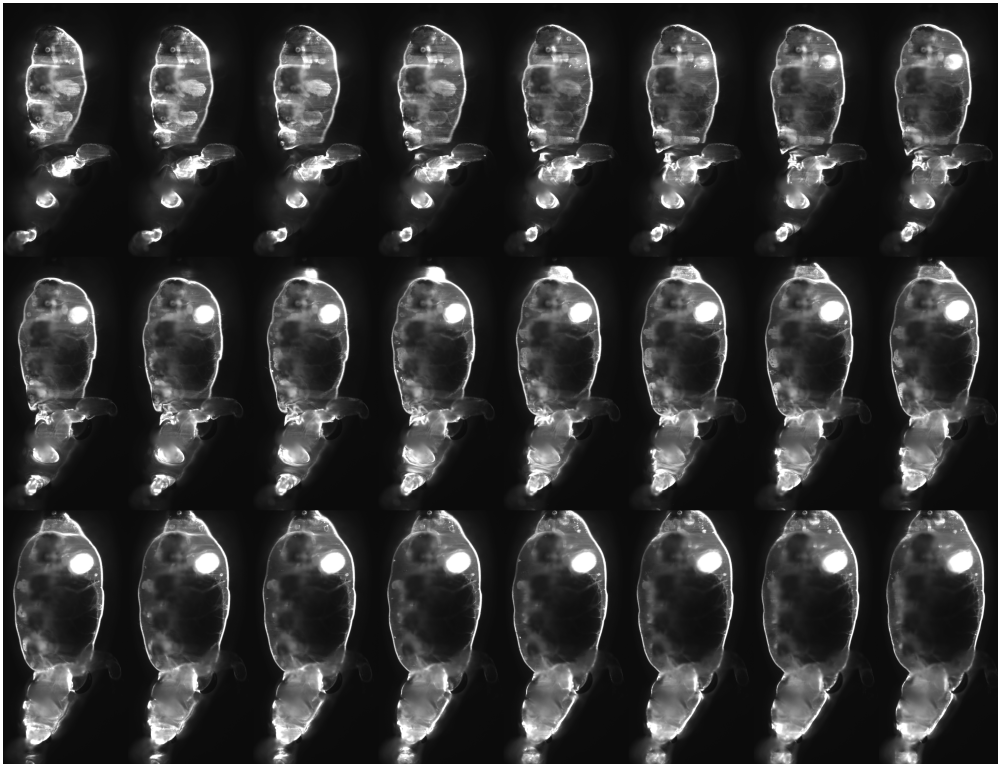


Abbildung 5.4: Montage einer Bildfolge von *SPIM*-Scans zur Verdeutlichung der Auflösung sowie der sichtbar werdenden Organe der untersuchten Läuse. Das Bild zeigt Sagittalschnitte einer Laus, welche sich von Bild 1 mit steigender Zahl in proximaler Richtung fortsetzen. Es ist zu erkennen wie der Kontrast im ventralen Bereich der Tiere deutlich abnimmt sobald der gefüllte Darm erreicht wird. Das ventral gelegene Myzetom stellt ein prominentes Merkmal dar, welches mit Fortschreiten der Scan-Ebene in proximaler Richtung deutlich hervortritt; der zugesetzte Farbstoff scheint in diesem Bereich stark absorbiert zu werden. Es wurden 12 Bilder/s aufgenommen, wobei die beleuchtete Objektebene einer Dicke von ca. 2 μm entspricht (Z-Achse).

sehen, durch eine Variation des Blickwinkels in Teilen umgangen werden können.

Ein Nachteil, welche die Einbettung der Läuse in Agarose mit sich brachte zeigte sich jedoch im Ausbleiben des rupturähnlichen Ereignisses. Auch nach Beobachtungszeiträumen von 24 min bei einer forcierten Plasmaexposition von 10 s war ein Ausbleiben des Rupturereignisses zu verzeichnen. Identische Behandlungszeiten führten bei unfixierten Proben in LM bzw. *OCT*-Verfahren wiederholbar zu einer Ruptur. Diese wurde im unfixierten Zustand stets innerhalb der ersten Minuten nach der Behandlung beobachtbar. Es ist anzunehmen, dass die Agarose als äußeres „Stützkorsett“ ein Einfallen der Probe durch Ausgleich der im Inneren der Probe auftretenden Kräfte verhindert. Diese Kräfte können als Folge einer durch das elektrische Feld der Plasmaentladung induzierten Veränderung osmotischer Drücke

im Inneren der Laus auftreten.

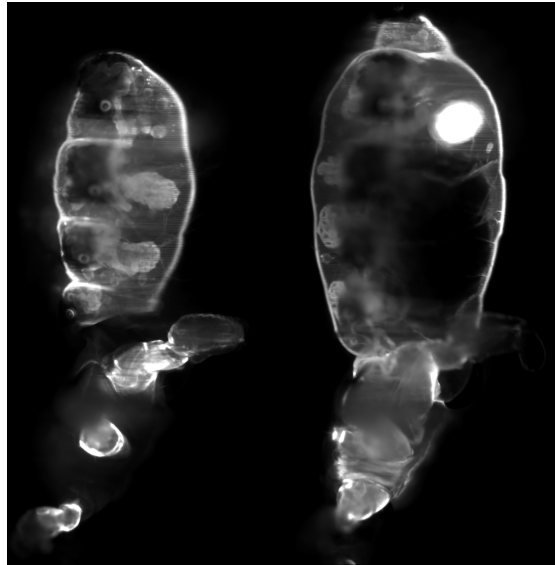


Abbildung 5.5: Vergrößert dargestellte Bildausschnitte aus Abb. 5.4 links: Bild 1, Zeile 1; rechts: Bild 7 Zeile 2. Anatomische Merkmale der männlichen Laus wie Testikel (Strukturen im linken Bild) sowie das ventral gelegen Mycetom (heller *Fleck* im Hinterleib; rechtes Bild) sind deutlich zu erkennen. Beim Fortschreiten der Scan-Ebene in Richtung Körpermitte wird deutlich wie der prall gefüllte Darm eine eindeutige Unterscheidung der Organe erschwert.

Zusätzlich konnten über die langen Beobachtungszeiträume der SPIM-Proben von > 50 min Hinweise auf eine Volumenzunahme der behandelten und eingebetteten Organismen gefunden werden. Diese wiesen bei gleichen Beobachtungszeiträumen eine von der Behandlungszeit abhängige Volumenzunahme auf. So wies eine Laus nach 15 min bei einer Plasmabehandlungszeit von 10 s eine deutlich stärkere Volumenzunahme auf als eine Laus nach nur 1 s Behandlungszeit. Das Problem der Volumenzunahme wird zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Arbeit weiter untersucht. Die tomographischen Untersuchungen hatten die Lokalisierung der im Innern der Läuse auftretenden Schäden zum Ziel. Die ersten Untersuchungen zeigen aber, dass weitere Präparationsschritte bzw. die Einbettung und Untersuchung der Proben nach Schadeneintritt nötig sind.

Zur Temperaturbestimmung im Läuseinneren

Um weiterhin Aufschluss auf mögliche auftretende Wirkmechanismen bei der Applikation des Plasmaläusekamms zu erhalten, wurde der mögliche Einfluss einer Plasmabehandlung auf die Temperatur der in der Körperhöhle enthaltenen Körperflüssigkeit (Hämolymphe) untersucht. Hierfür musste ein geeignetes Verfahren gefunden werden. Dem wurden folgende Überlegungen vorangestellt. Kontaktierende Messverfahren (Thermometer, Thermoelemente etc.) beeinflussen das Probenverhalten, vor allem sehr kleiner Proben maßgeblich. Infrarotthermometer hingegen eignen sich ausgezeichnet um Oberflächentemperaturen zur erfassen, zeigen jedoch eine starke Abhängigkeit von der Emissivität und benötigen für präzise Aussagen vergleichsweise große Detektionsflächen. Bei der Plasmabehandlung von Kleinstinsekten ist, sowohl aufgrund der Größe, als auch durch die geringen Leitwerte des Chitinkomposits des Exoskeletts, eine auf Probenemissivität fußende Messtechnik ungeeignet. Des Weiteren würde das aufgeheizte Plasmagas eine Oberflächentemperatur überlagern und verlässliche Aussagen unmöglich machen. Um dennoch Temperaturanstiege im Probeninnern während einer Plasmabehandlung, also Online, zu ermöglichen wurde auf das als TC-LIF²⁸ bekannte Verfahren in Anlehnung an [169] zurückgegriffen.

Hierbei wird eine mit zwei Farbstoffen versetzte, flüssige Probe mittels Laserstrahlung zur Fluoreszenz angeregt. Eine Aussage bezüglich der Temperatur der Lösung wird nun aus dem relativen Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten möglich. Hierzu sollte einer der Farbstoffe eine möglichst stabile, temperaturunabhängige Intensität der Fluoreszenz zeigen. Der zweite Farbstoff muss nun so gewählt werden, das eine deutliche Veränderung der temperaturabhängigen Intensität des Fluoreszenzsignals zu verzeichnen ist. Für die hier gezeigten Messungen wurden die Farbstoffe *Rhodamin B* (*RhB*: temperatursensitiver Farbstoff) sowie *Sulforhodamin 101* (*SRh101* relativ temperaturstabiler Farbstoff) gewählt. Die Farbstoffe wurden unter Verwendung eines frequenzverdoppelten Nd:YAG-Lasers (≈ 15 mW; CW) bei 532 nm zur Fluoreszenz angeregt.

Der Farbstoff wurde unter Verwendung der zuvor genannten Membranfütterungsmethode in Tiere des dritten Larvenstadiums verbracht. Bei der Versuchsdurchführung zeigte es sich als Vorteilhaft die Membranfütterung der Tiere ausschließlich mittels angefärbten Blutserum durchzuführen, da sich das

²⁸laserinduzierte Zweifarbenfluoreszenz

Vorhandensein roter Blutkörperchen negativ auf die Bandbreite der detektierbaren Fluoreszenzsignale auswirkte und eine klare Trennung der unterschiedlichen Fluoreszenzpeaks deutlich erschwerte.

Die zur Fütterung verwendeten Blutseren ²⁹ wurden mit ca. $0,2 \text{ mg ml}^{-1}$ *RhB* und $0,6 \text{ mg ml}^{-1}$ *SRh101* angefärbt. Zur präzisen Dosierung wurden höhere Konzentrationen der Farbstoffe in DI-Wasser gelöst und anschließend in kleinen Mengen dem Blutserum beigemischt. Hieraus ergeben sich die relativ präzisen Mengenangaben. Die Temperaturmessungen erfolgten innerhalb eines Zeitraums von 60 min nach der Fütterung, um eine Metabolisierung sowie Diffusion der Farbstoffe möglichst gering zu halten. Die Läuse wurden des Weiteren durch kurzes Einfrieren bei -80°C , um etwaige Störungen z. B. Reflexe durch sich bewegende Gliedmaßen sowie Darmperistaltik zu reduzieren.

Das hier zum Einsatz kommende Messverfahren beruht auf der Auswertung der temperaturabhängigen, integralen Intensität der farbstoffspezifischen Emissionsbereiche der beiden zuvor genannten Fluoreszenzfarbstoffe. Da bei diesen Versuchen davon ausgegangen werden muss, dass die verwendeten Individuen unterschiedliche Mengen Nahrung aufgenommen haben, sind auch Schwankungen der Farbstoffkonzentrationen anzunehmen. Hierdurch, ebenso wie durch ein potentiell schwankender Wassergehalt und leichte Abweichungen bei den pH-Werten der Hämolymphe der einzelnen Individuen, ist mit Abweichungen in den Fluoreszenzsignalen zu rechnen. Deshalb wurde für jedes Individuum eine Kalibrationsmessung vorgenommen. Hierfür wurden die zu untersuchenden Individuen in ein Wasserbad verbracht, welches über einen Zeitraum von 20 min von ca. 20°C auf eine Temperatur von ca. 40°C erhitzt wurde. Es wurden sowohl die Temperatur T des Wasserbades (mittels eines faseroptischen Temperaturfühlers Typ: FISO, Fa. Soliton GmbH) als auch die zugehörigen Intensitätsverhältnisse I der Fluoreszenzsignale beider Farbstoffe (mittels eines Spektroskops des Typs *StarLine AvaSpec-ULS2048* der Firma *AVANTES*) aufgezeichnet. Die hierbei abgefahrte lineare Aufheizcharakteristik erlaubt es im Anschluss die zugrunde liegende T - I -Geradengleichung heranzuziehen, um über deren Steigung die während der Plasmabehandlung gemessenen Intensitätsverhältnisse mit der Temperatur in Beziehung zu setzen.

Um die zugehörigen Wellenlängenbereiche der beiden Farbstoffe möglichst präzise zu ermitteln, wurde die relative Intensitätsdifferenz bei unterschiedlichen Temperaturen bestimmt. Die in Abb. 5.6 gewählte Darstellungsform dient hierbei der

²⁹Herstellung durch Sedimentation unter Verwendung von Heparin

eindeutigen Identifikation der farbstoffspezifischen Emissionsbereiche. Abb. 5.6 zeigt deutlich die temperaturabhängige Veränderung des optischen Signals bei 550 nm – 610 nm, welche auf den Farbstoff Rhodamin B zurückzuführen ist. Der Bereich von 610 nm – 750 nm wird für die Kalkulation der Intensitätsverhältnisse deshalb vollständig dem temperaturstabilieren Sulforhodamin 101 zugeordnet.

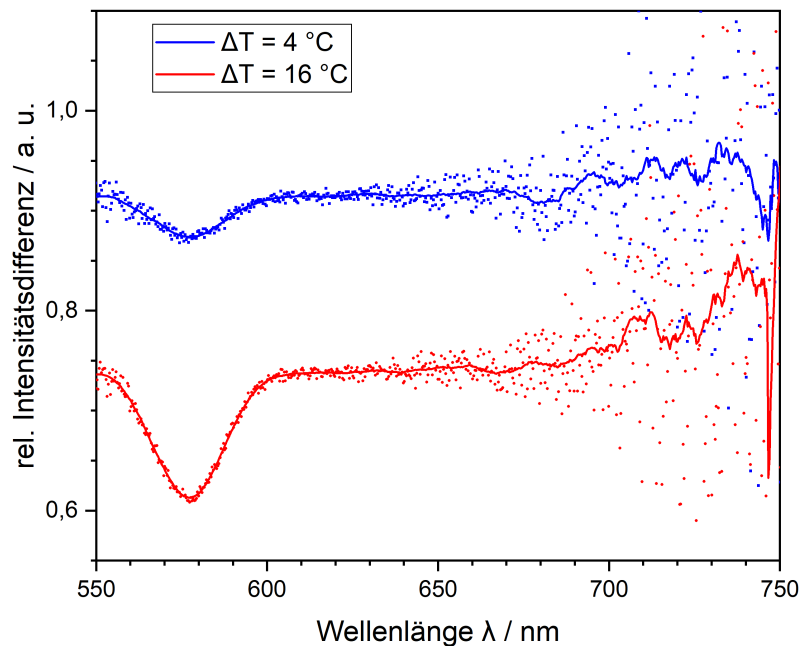


Abbildung 5.6: Darstellung der auftretenden Intensitätsdifferenzen eines Mischsignals der beiden Farbstoffe Rhodamin B und Sulforhodamin 101 bei einer Temperaturdifferenz von 4 °C (blau) bzw. 16 °C (rot). Bei den hier dargestellten Signalen handelt es sich um geglättete Originalsignale aus angefärbtem Blutserum im Läuseinneren bei Anregung durch Laserstrahlung der Wellenlänge $\lambda = 532$ nm. Zur Glättung der Daten wurde ein Filter nach Savitzky-Golay 2. polynomieller Ordnung mit $k=60$ verwendet. Dies bietet gegenüber einer Glättung mittels gleitenden Durchschnitt den Vorteil, dass die Gaußform des Rhodamin B-Peaks bei relativ guter Glättung des Gesamtsignals erhalten bleibt. Die Intensitätsverteilung der einzelnen Fluoreszenzfarbstoffe in Blutserum ist ergänzend hierzu auch noch einmal in Abb. 5.7 dargestellt.

Nach Abschluss der Kalibrationsmessungen, wurden dieselben Läuse, nach einer Retemperationsphase von ca. 10 min, in den Entladungsspalt eines Zinkenpaares des Plasmaläusekamms eingebracht und während der Behandlung erneut spektroskopisch vermessen. Hierzu wurden die Läuse auf einem nichtleitenden Filament aus Polyethylen fixiert (siehe auch Abb. 5.9).

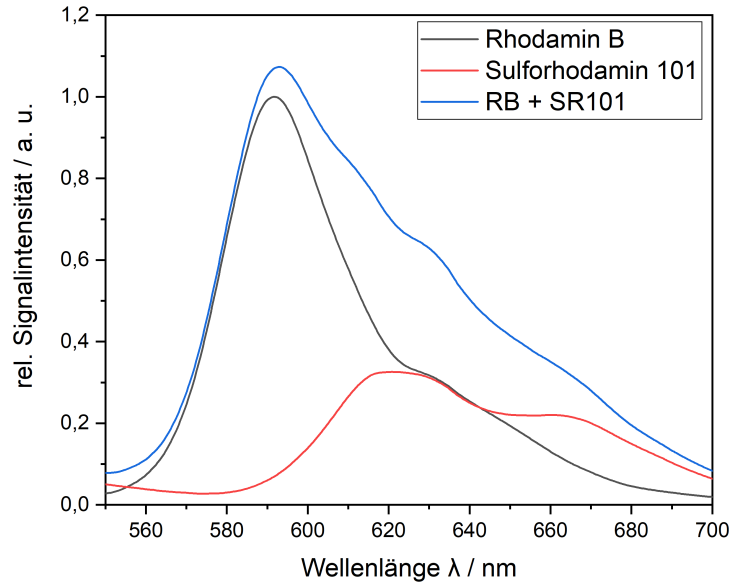


Abbildung 5.7: Beispieldarstellung der auftretenden Emissionen der Farbstoffe Rhodamin B (schwarz), Sulforhodamin 101 (rot), sowie deren Überlagerungssignal (blau). Bei den dargestellten Signalen handelt es sich um geglättete Originalsignale aus angefärbtem Blutserum bei Anregung durch Laserstrahlung der Wellenlänge $\lambda = 532 \text{ nm}$. Vergleichend mit den Emissionssignalen der Farbstoffe in Wasser, wie in [169] veröffentlicht, fällt die reduzierte Emission des in Blutserum gelösten SR101 im Bereich $590 \text{ nm} - 610 \text{ nm}$ auf, was sich Vorteilhaft auf die Auswertemöglichkeiten mit nur einem Kamerasystem auswirkt.

Zur Ermittlung der Temperatur wurden die gemessenen, integralen Intensitäten gemäß der Gleichung:

$$I = \frac{\int_{550nm}^{\leq 610nm} I_{(\lambda)} d\lambda}{\int_{>610nm}^{750nm} I_{(\lambda)} d\lambda} \quad (5.1.1)$$

mit der Gleichung der Regressionsgeraden nach dem Schema $I = mT + b$ gefaltet, welche nach der Temperatur umgestellt werden kann.

Abb. 5.8 zeigt den so während der Plasmabehandlung aufgezeichneten Temperaturverlauf.

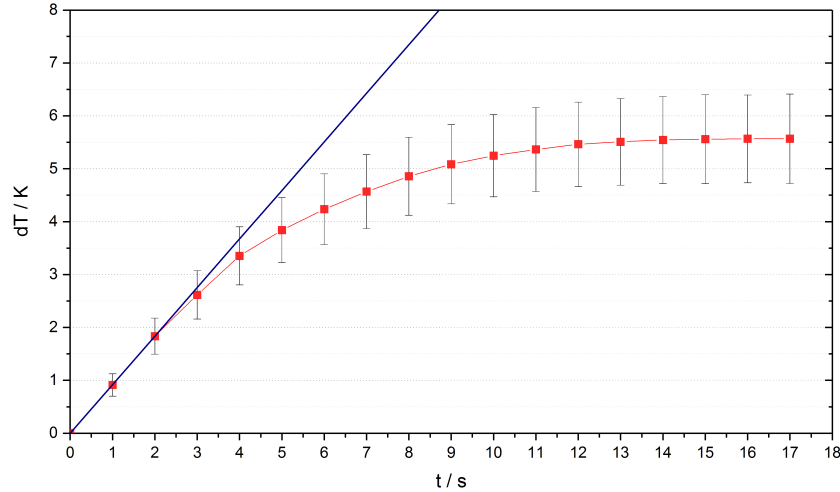


Abbildung 5.8: Temperaturverlauf im Läuseinnern bei einer mehrere Sekunden andauernden Plasmabehandlung (N=28). Die blaue Gerade gibt die ideale Aufheizung der Laus an, welche sich ohne Wärmeabgabe einstellen würde.



Abbildung 5.9: Beispiel einer für die Temperaturbestimmung präparierten Laus. Diese wurde auf einem Kunststofffilament montiert und zeigt deutlich die gleichmäßige Anfärbung der Hämolymphe durch die Farbstoffe *RhB* und *SRh101*.

Die aus den Intensitätsverhältnissen berechneten, in der Hämolymphe der Tiere auftretenden, Temperaturanstiege innerhalb der ersten Sekunde beliefen sich dabei im Mittel auf:

$$\frac{\Delta T}{t} = (0,94 \pm 0,25) \text{ K s}^{-1} . \quad (5.1.2)$$

Als Probenkörper wurden ausschließlich Läuse im dritten Larvenstadium³⁰ (N=28)

³⁰internationale Bezeichnung: 3rd Instar

verwendet, welche nahezu identische Abmessungen aufwiesen.

Es wurden keine extremen Temperaturverläufe mittels des TC-LIF-Verfahrens ermittelt, wobei die sehr kurzzeitigen Entladungsereignisse durchaus als heiß betrachtet werden können (siehe $T_{gas} = 600\text{ K}$ aus Kapitel 5.1 [140]).

5.2 Effekte eines kalten Atmosphärendruckplasmas auf menschliches Haarmaterial

Das menschliche Haar ist eines der am umfassendsten erforschten Materialien des menschlichen Körpers. Es besteht aus Proteinen, Lipiden, Spurenelementen, Pigmenten und Wasser. Das Haar lässt sich in drei zumeist gut unterscheidbare Regionen einteilen. Dies ist zum einen die **Kutikula**, welche die außenliegenden, überlappende Schuppen des Haars bilden. Unterhalb der Kutikula liegt der Bereich des sogenannten **Cortex**. Dieser besteht aus Makrofibrillen, die sich wiederum aus filamentierten Proteinketten zusammensetzt und die ihrerseits von einer Matrix aus Bindegewebe umgeben sind. Der zentrale Teil eines Haars wird als **Medulla** bezeichnet. Hier lockert sich die Faserstruktur deutlich auf oder verschwindet, je nach Dicke des jeweiligen Haars, gänzlich. In diesem Teil des Haars treten immer wieder Vakuolen auf, welche aus der Dehydratation während der Haarbildung im Folikel entstehen können. Auf die Medulla entfällt nur ein geringer Teil der Haarmasse. Der Großteil der Haarmasse entfällt mit ca. 80% auf den durch die Makro- und Mikrofibrillen des Keratins gebildeten Cortex. Der Haaraufbau wird in Abb. 5.10 verdeutlicht. Die zugrundeliegenden Mechanismen intendierter wie arbiträr äußerer Einflüsse, z.B. Schwellen/Schwinden des Haarmaterials durch Feuchtigkeitsschwankungen sowie Interaktionen kosmetischer Produkte zur Veränderung der Haarphysiologie waren in den vergangenen Jahrzehnten immer wieder Gegenstand der Forschung [170–175]. Hierbei wurden zumeist auf Analytikmethoden wie XPS (Röntgenphotonenspektroskopie)[170], WAXS (Weitwinkel Röntgenstreuung)[176], ATR - FTIR (abgeschwächte Totalreflexion - Fourier Transformierte Infra-Rot Spektroskopie)[171] sowie REM (Rasterelektronenmikroskopie)[177, 178] und SNOM (Scanning Nahfeldoptische Mikroskopie)[179] zurückgegriffen. Durch die in Kapitel 5.1 vorangehend vorgestellte wissenschaftliche Publikation zur Wirksamkeit des Plasmaläusekamms konnte neben der Effektivität auch die Unbedenklichkeit des Einsatzes der Quelle für den Endverbraucher gezeigt werden. Die hier nun folgende Studie konzentriert sich auf das mögliche Schadpotential des Plasmakamms gegenüber menschlichem Haarmaterial. Eine negative Beeinträchtigung der Haare durch eine solche medizinische Behandlung sollte aufgrund der großen kosmetischen Bedeutung, welche dem Haupthaar für viele Endanwender zukommt, ausgeschlossen werden.

Um etwaige Schädigungen zu evaluieren wurde die oberflächliche Morphologie

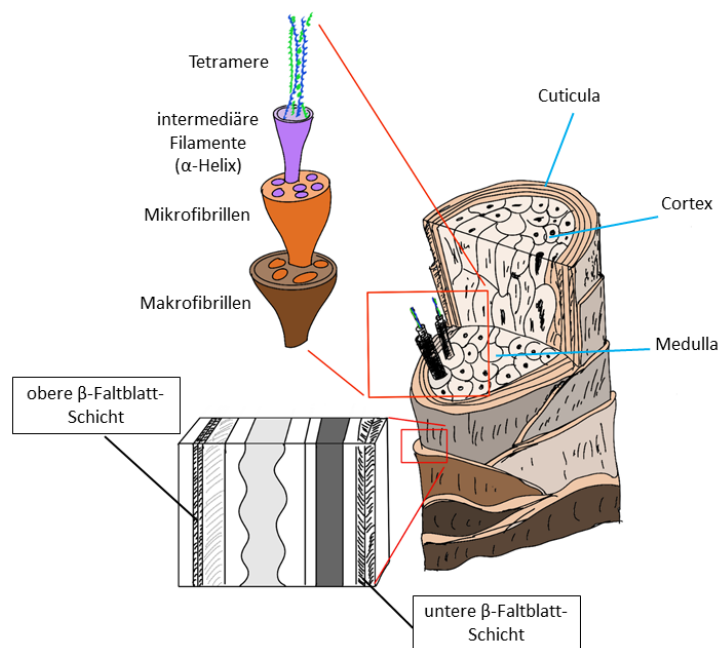


Abbildung 5.10: Handskizze zur Darstellung des inneren Aufbaus und der hierdurch Entstehenden der Haarstruktur (in Anlehnung an [170–172]) zur weiteren Verbesserung des Verständnisses der Diskussion der nachfolgenden Veröffentlichung.

der Haare zunächst mittels Rasterelektronenmikroskopie bonitiert. Die potentielle Beeinträchtigung der chemischen Struktur der Haare wurde im Anschluss mittels der Analyse der für ihre Sekundärstruktur maßgeblich verantwortlichen Amidbindungen evaluiert. Eine Untersuchung der Beeinträchtigung der Amidstruktur der Haare wurde mittels der oberflächensensitiven Methoden SNOM und XPS vorgenommen. Die hierbei deutlich auftretenden Amid I- und Amid II-Banden konnten so miteinander verglichen werden. Zwar wurde Haarmaterial mit der hier verwendeten Methode bereits an anderer Stelle untersucht [179], jedoch ist die Auswertung des Nahfeld-FTIR-Signals eines SNOM zur Evaluierung des Effekts einer Plasmabehandlung auf menschlichem Haar zuvor noch nicht durchgeführt worden. Vergleicht man die kongruierenden Aussagen von SNOM und XPS so wird deutlich, dass mit der SNOM-Nahfeldspektroskopie eine schnelle und unkomplizierte Methode und womöglich Alternative zur Evaluierung plasmabehandelter Probenmaterialien vorliegt. Für das Arbeiten unter Atmosphärendruck und ohne etwaige, aufwändigere Probenpräparation lässt sich die SNOM-Methode somit als interessante Alternative für erste, schnelle Abschätzungen des Effekts einer Plasmabehandlung auf organischen Materialien heranziehen.

Über eine leichte, im REM erkennbare oberflächliche Beeinträchtigung im Bereich der Kutikula hinaus konnte bei den Untersuchungen keinerlei maßgebliche Schädigung der Haare festgestellt werden. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Studie wurde die Wechselwirkung kalter Atmosphärendruckplasmen mit menschlichem Haarmaterial bereits untersucht, z.B. durch *Öngel et al.*[180]. Die hier verwendeten Plasmen wiesen jedoch eine nicht zu vernachlässigende Beeinträchtigung des Haarmaterials auf. Somit konnte gezeigt werden, dass durch die gewählte Elektrodengeometrie des Plasmaläusekamms nicht nur eine äußerst effektive Abtötung von Läusen und deren Eier, sondern ebenfalls ein das Haarmaterial schonendes Verfahren zur Pedikuloetherapie gefunden werden konnte. Die beschriebenen Untersuchungsreihen wurden im nachfolgenden Fachartikel publiziert.

Quelle Originalveröffentlichung:

Lars ten Bosch, Andreas Huber, Philipp Sauerbier, Robert Köhler, Georg Avramidis, Wolfgang Viöl

Effects of a newly devised plasma lice comb on human hair

Journal: Plasma Science and Technology; 2019; 21(12);
doi: 10.1088/2058-6272/ab428b

(Web of Science Impact Factor: 1.193 (2019))

Effects of newly devised plasma lice comb on human hair

Lars TEN BOSCH¹, Andreas HUBER², Philipp SAUERBIER³
Robert KÖHLER¹, Georg AVRAMIDIS¹ and Wolfgang VIÖL¹

¹ University of Applied Sciences and Arts HAWK, Faculty N, Von Ossietzky Strasse 99/100, 37085 Göttingen, Germany

² Neaspec GmbH, Eglfinger Weg 2, 85540 Munich Haar, Germany

³ Wood Biology and Wood Products, Faculty of Forest Sciences and Forest Ecology, University of Göttingen, Büsgenweg 4, 37077 Göttingen, Germany

E mail: lars.bosch@hawk.de

Received 26 June 2019, revised 9 September 2019

Accepted for publication 9 September 2019

Published 1 October 2019

Abstract

A plasma device was developed showing high potential for a pesticide-free treatment of pediculosis. As a first safety assessment of the device was presented earlier, this present paper focuses on the damage introduced to human hair during a plasma treatment for pediculosis control. Therefore, human hairs were treated repeatedly to assess the possible occurring damage developing with increasing treatment durations. To analyse the inflicted changes on human hair examinations using x-ray photoelectron spectroscopy (XPS/ESCA), scanning nearfield optical microscopy (SNOM) and scanning electron microscopy were conducted, to compare the modifications of surface chemistry and mechanical alterations. The investigations revealed a mild impact on the surface chemistry (XPS/SNOM), while more distinct morphological changes on the hair surface could be observed. The authors conclude that an effect of the plasma comb device on the hair during a real-life treatment is negligible, due to the very short contact times during a standard combing procedure for pediculosis control.

Keywords: atmospheric pressure plasma, dielectric barrier discharge, pediculosis, SEM, SNOM, ESCA, XPS, hair smoothing, plasma based pest management

(Some figures may appear in colour only in the online journal)

1. Introduction

Pediculosis poses a problem worldwide, especially when larger groups of humans aggregate over long time periods for example in kindergartens, schools, homeless shelters and so on.

Common treatment methods include combing sessions using special lice and nit combs and the application of different agents aiming at a treatment of pediculosis by use of pesticide agents [1]. Furthermore, a group of natural remedies can be applied using, e.g. neem extract [2] or silicon oils (Polydimethylsiloxane) [3] killing lice through suffocation by blocking the respirational tracts. Satisfying results are accomplished with classical combing sessions when executed correctly. On the other hand, this method tends to need professional supervision; however, it is very time consuming

when aiming for maximum effectiveness. Remedies based on a chemical mode of action often show satisfying results also, when applied correctly. Contrary to public opinion, these remedies often should be applied more than once to reliably unfold their full effectivity [4]. Furthermore, the high efficacy of the classical chemical remedies is often bought by a possible non-negligible endangerment of the host due to toxic side-effects [5–7]. The awareness of this problem often leads to a wrong application. When the user precautionously reduces the application quantity of the remedy a reduction of effectivity is occurring alongside an enhanced possibility of resistance formation within the treated lice [7, 8]. Some natural remedies show satisfying results but sometimes need repeated applications to achieve maximum ovicidal efficacy [9, 10].

Meeting the disadvantages of current treatment methods, a physical approach was recently presented known as cold atmospheric pressure plasma (CAPP) which was implemented in the form of a plasma lice comb (PlaCo) [11]. As presented, this method shows interesting results advocating its application as a possible pesticide-free alternative to commonly known remedies. In this comb the plasma ignites between two sets of electrodes and is brought directly to the hair (tests were performed on *Pediculus humanus humanus*) for a short period of time. Its efficacy is mainly based on physical modes of action, thus overcoming the issue of resistance formation within the treated lice and significantly reducing the toxicity of a treatment for the user and the environment compared to pesticide agents.

As the plasma will not only be in contact with the target species of head lice (*Pediculus humanus capitis*) but with the hair material of the user, the present study is focusing on the interaction of the occurring plasma produced by the PlaCo-device with human hair. The effects of plasma treatments on hair using different plasma sources and working gases, have already been investigated [12]. However, the aim of the study was different as it used rather powerful plasma with 20 W and compared it to a classical H_2O_2 treatment to mimic its cleaning and surface alteration (e.g. bleaching) capabilities. Öngel *et al* [12] did show the influence of atmospheric pressure helium, helium/oxygen, argon, and argon/oxygen plasma jets, significantly altering the hair material. Another study of CAPP revealed that the keratinocytes of human hair are not negatively effected using a microwave ignited argon plasma. Furthermore, it enhances the antibacterial activity of antimicrobial peptides in the keratinocytes [13].

Within the present study, the impact of a CAPP treatment of human hair is investigated using different surface analytical tools. The applied analytical methods are x-ray photoelectron spectroscopy (XPS/ESCA), scanning near-field optical microscopy (SNOM) as well as scanning electron microscopy (SEM). The investigation aims at the possible negative impact on human hair that can be expected after a lice treatment using the plasma comb device described in a previous study [11].

2. Materials and methods

2.1. Hair material and plasma treatment

The sample material was collected from a brunette woman of 35 years of age. The hair samples were cut taking two strands from the back of the head giving a length of approximate 20 cm. Single hairs, selected arbitrarily from the strand were treated with the plasma device (PlaCo) with onefold (1×), tenfold (10×), thirtyfold (30×) transitions at a velocity of approximate 1 cm s^{-1} and at a length of 5 cm. The reference samples were left completely untreated. All hair samples were handled with tweezers and powder free latex gloves.

Figure 1 displays the PlaCo device on which the data of effectivity against *Pediculus humanus humanus* was reported in a study published earlier [11].

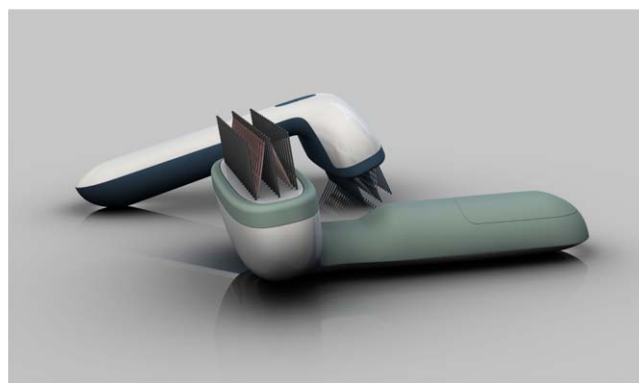


Figure 1. Newly devised plasma lice comb for pediculosis treatment, working with two rows of electrodes.

Table 1. Atomic concentration of treated and untreated hair.

	C1s	N1s	O1s	Si2p	S2s	Ca2p
Reference	80.9	5.1	10.9	0.8	1.5	0.9
1× treatment	79.4	6.1	12.1	0.7	1.3	0.4
10× treatment	78.3	4.9	12.9	1.0	2.0	0.9
30× treatment	78.7	5.4	13.1	0.4	1.8	0.6

The capacitively coupled V-shaped electrodes form a comb-like device introducing the ignited plasma directly into the bulk material of the scalp hair and therefore on the lice and their nits. The device is driven using a 9 V battery giving total independence from any main supplies.

The device is controlled using a microprocessor controlled flyback converter with a primary/secondary transformer operated in resonance. The applied voltage of approximate 16 kV is regulated with the duty cycle given by the microprocessor. Further data concerning the PlaCo setup can be found in [11].

2.2. Characterization of hair samples

XPS measurements were performed on a PHI 5000 Versa Probe II (ULVAC-PHI, Chigasaki, Japan) using monochromatic Al $K\alpha$ radiation with a photon energy of 1486.6 eV. The minimum detector resolution measured at the Ag3d5/2 peak is 0.45 eV. Survey spectra measurements were performed with a pass energy of 186.85 eV, a step size of 0.4 eV and a spot size of 200 μm . The detailed spectra of carbon (C1s), nitrogen (N1s), oxygen (O1s) sulphur (S2p) and silicon (Si2p) were recorded with a pass energy of 46.95 eV, a step size of 0.1 eV and a spot size of 200 μm . In order to avoid charging effects, the measurements were carried out with neutralization of sample charging. All spectra (detail and survey) were shifted to the main C1s peak at 285.0 eV. To enable measurements of the samples using a spot size of 200 μm a bulk of equally treated hairs ($N > 10$ per treatment duration) had been introduced to the sample chamber giving the results displayed in tables 1 and 2. To reach a good signal-to-noise ratio, the XPS measurements were performed using peak-to-noise cut-off criterion of 500.

Table 2. Atomic concentration of deconvoluted C1s and S2p components.

	C C/C H	C N/C O	O=C N	O=C O	C S C/C S S C	C SO ₃
Reference	63.4	10.0	5.1	1.9	1.2	0.4
1× treatment	56.6	13.7	6.0	2.7	1.4	0.4
10× treatment	54.7	14.6	4.7	4.8	1.3	0.4
30× treatment	58.0	12.4	3.9	4.6	1.4	0.4

Further analysis of the hair material was conducted using a SNOM (Neaspec GmbH, Munich-Haar, Germany). The SNOM used in this work is based on a vertically oscillating AFM tip. The tip is oscillating with resonance frequency of the cantilever. Infrared (IR) near-field spectroscopy and imaging were performed by an interferometric detection of light scattered from a gold-coated AFM tip (NanoWorld AG, Neuchatel, Switzerland). The illumination was realised using a quantum cascade laser (Neaspec GmbH), maximum frequency range ca. 650 2100 cm⁻¹, operated at an average power of 3 mW, focused using a parabolic mirror objective. The detector signal is demodulated at higher harmonics of the tip oscillation frequency. For the analysis of these frequencies an interferometer is employed performing a Fourier transform spectroscopy of the light scattered elastically from the tip. This detected near-field signal divides into amplitude and phase signals which are in good agreement with classical far-field reflection and absorption signals [14 17]. To correlate and compare the signals to the topography of the sample AFM images were recorded simultaneously.

The hair samples were placed on a Si wafer for easy calibration of the SNOM system, as the high optical output signal of Si is facilitating a precise adjustment. The data acquisition for every treatment duration was conducted at different positions of each hair sample. As no significant changes of the surface chemistry were correlating to topological differences of the sample the depiction of the results in figure 4 is based on an average of different samples ($N > 3$ for every treatment duration), giving an enhanced signal-to-noise ratio.

SNOM spectra are in good agreement with FTIR-ATR (attenuated total reflection) spectral data. Therefore, spectra within this study are compared to spectra of that kind.

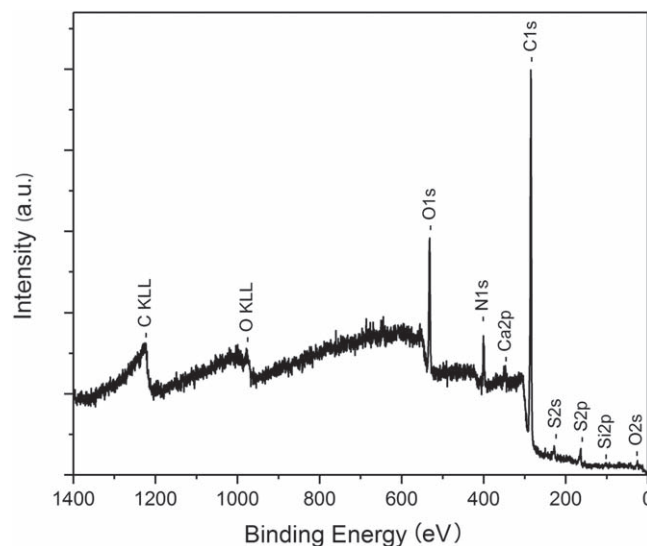
Acquisition of SEM images were performed on an EVO LS 15 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany) with an accelerating voltage of 5 kV. To avoid charging effects, the hair samples were pre-sputtered with a 20 nm gold layer.

3. Results

The following results present the effects occurring on hair samples subsequent to plasma treatment.

3.1. XPS analysis

XPS measurements were performed to determine the elemental composition and binding states for the hair in treated and untreated state. The hair spectra consists of six elements:

**Figure 2.** XPS survey spectra of untreated human hair.

carbon, oxygen, nitrogen, sulphur, silicon and calcium as shown in the survey spectra of an untreated hair sample (figure 2), which is in agreement with findings from the literature (e.g. [18]).

The atomic concentration of the reference and the plasma treated samples are displayed in table 1. The carbon content decreased after 30× treatment by 2 atom% due to the plasma treatment, whereas the oxygen peak increased correspondingly. The atomic concentrations of silicon, sulphur, calcium and nitrogen remain unaffected.

In order to rule out significant chemical alterations or even possible decomposition of the hair surface due to plasma treatment, detailed spectra of C1s, O1s, N1s, Si2p and S2p were recorded. Deconvolution of C1s peak leads to four main components (figure 3(a)) at 285.0 eV (C C, C H), 286.3 eV (C N, C O), 287.8 eV (O=C N), and 288.8 eV (O=C O) [19]. The S2p peak (figure 3(b)) exhibits two components at 163.7 eV and 168.4 eV. The band at 163.7 could be assigned to S C S [20] or C S S C [21]. The band at 168.4 eV can be attributed to oxidized sulphur S O [20], whereas Okamoto *et al* assigned it to C SO₃ H indicating a partially damaged hair surface by bleaching [22]. Table 2 shows the atomic concentration of the C1s and S2p components determined by deconvolution of the corresponding detail spectra. Due to the plasma treatment, a reduction of up to 8.7 atom% of total C C/C H content could be determined.

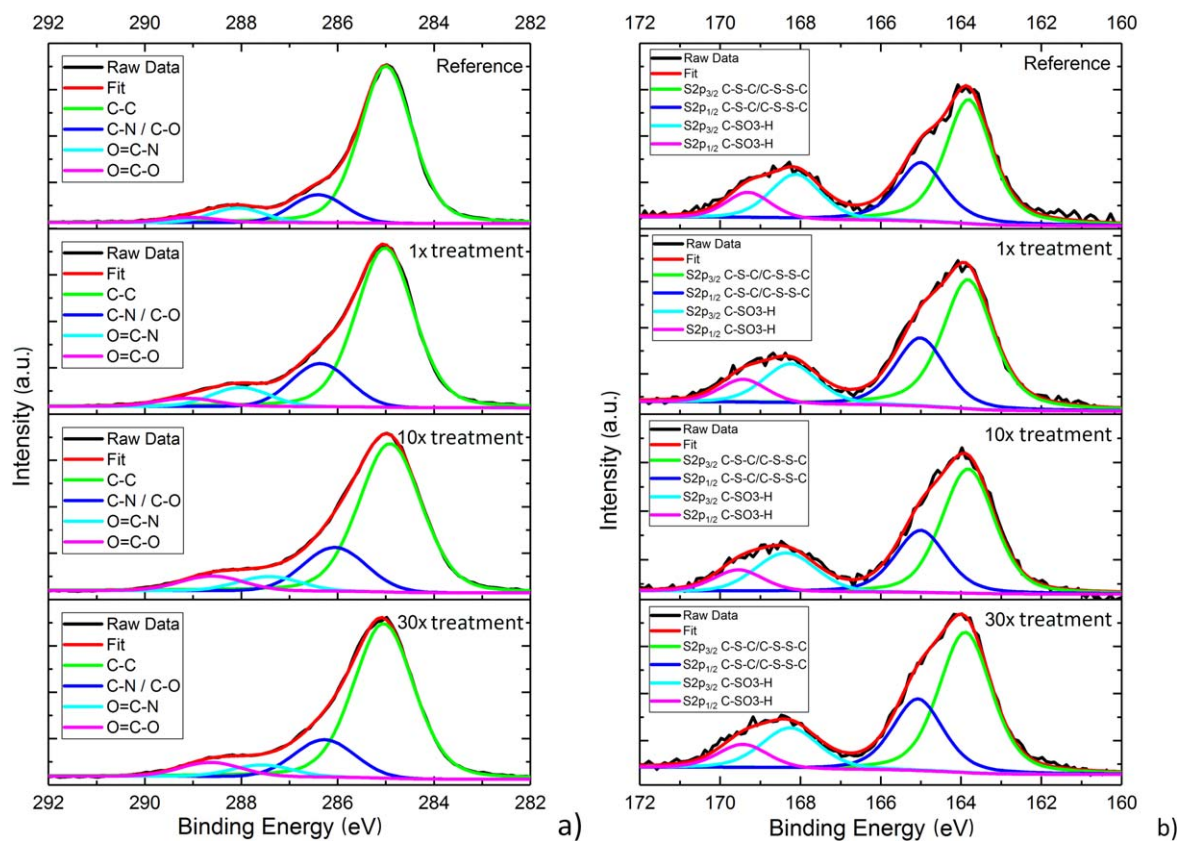


Figure 3. (a) C1s peak of human hair after direct exposure to air plasma (PlaCo device). (b) S2p peak of human hair after direct exposure to air plasma (PlaCo device).

3.2. SNOM analysis

In the following section, the development of the changes in the chemistry of hair surfaces after a plasma treatment using the PlaCo device is shown. Figure 4 shows the second harmonic phase spectrum of a reference sample as well as of five spectra of hair samples being plasma treated with increasing treatment times. All phase spectra show dominant bands around $\sim 1530\text{ cm}^{-1}$ and $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ being the before mentioned Amide I- and Amide II bands. The discussion in the following (section 4) is based on the phase spectra. The shapes of the two bands only slightly differ with increased treatment times, which is in good agreement with the XPS data. To further show the progression of possible impact of a plasma treatment the SNOM investigations were conducted using a different step size concerning the considered time intervals (compared to XPS analysis).

3.3. SEM analysis

The SEM analysis of the samples revealed a clear progression of the impact subsequent to plasma treatment. The reference sample (figure 5(a)) of the hair reveals the typical scale-like surface covered in a thin film of lipids. This lipid layer seems to be partially removed after a single treatment at 1 cm s^{-1} (figure 5(b)). Some of the scales show a slight lift-off from the bulk material. These lifted scales seem to be removed with increasing treatment times (figures 5(c) (e)) until a smooth

hair surface, showing no lift-of scales, becomes visible after a maximum of 30 treatments.

4. Discussion

When applying an atmospheric pressure plasma device for pediculosis treatment the question for possible impact of the treatment on the structure of human hair arises. Therefore, we investigated hair samples, treated with such a device [11], for chemical and topographical alterations of the hair surface.

Investigating varying hair samples treated repeatedly, up to 30 times, using XPS revealed only slight changes in surface chemistry. As the relative carbon amount of the sample is dropping by a few atomic percent the oxygen amount increases by almost the same amount showing how the hair surface is slightly oxidized. The detailed investigation of the C1s peak shows the occurrence of a small shoulder around 286.5 eV correlating to the increase of carbon-oxygen single bonds subsequent to plasma treatment. Furthermore, the fraction of carbon oxygen double bonds shows a slight increase, as depicted in table 2.

These findings show the oxidizing properties inherent to an air plasma. This agrees with findings reported by Molina *et al* [19], who also treated human air with oxygen containing (water vapour) plasma at low pressure (10 Pa). No distinct differences between the reference sample and the treated hair in the S2p peak could be observed. Analysis of the

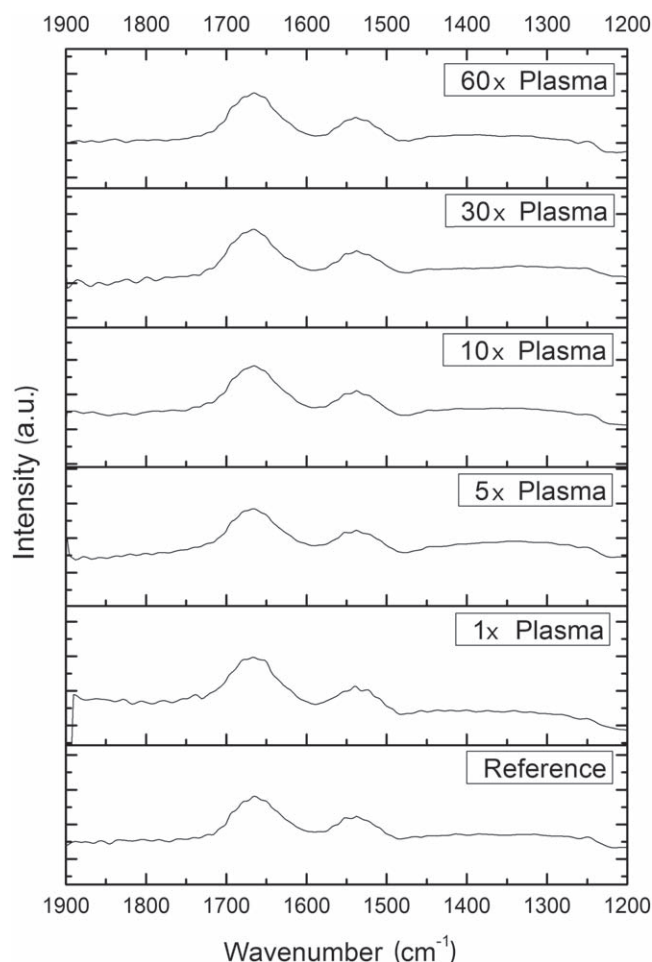


Figure 4. Comparison of the Amide I ($\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$) and the Amide II ($\sim 1530 \text{ cm}^{-1}$) bands in the second harmonic phase (absorption) signal occurring after different plasma treatment durations, measured using a SNOM.

investigated elements silicon, nitrogen, and calcium show only small variations, as depicted in table 1. Here, the N1s and O1s peaks showed no significant alterations between plasma exposed samples and untreated hair. Table 2 is showing how the plasma driven oxidation process is shifting the C1s peak towards the C O/C=O tail of the peak. We hypothesise that the Si2p and Ca2p can be assigned to remnants of hair care products and the hardness of the used rinsing water. As an even spread of these remnants, especially silicones and amino silicones, on the complete hair cannot be supposed [23], the discussion of a plasma effect on these materials based on the presented measurements would be speculative and has to be addressed in a different study.

Comparing these results with the investigations of Öngel *et al* [12], the XPS data presented here show that the plasma treatment applied with the PlaCo device inflicts only minor changes to surface chemistry of the hair samples.

Subsequent to the first investigations using XPS analysis, the plasma treated hair material was analysed using SNOM to get further insights to possible influences of a CAPP treatment in air. Especially plasma-induced changes of the basic

structure of the α -helices of the hair material should be observable using this method. These secondary structures of the hair material clearly stay unaltered due to their naturally strong IR signals to vibrational modes of the carbon-nitrogen bonds, as well as to the out of phase combinations of nitrogen-hydrogen in-plane bending vibrations at $\sim 1530 \text{ cm}^{-1}$ for the Amide II-band and the double bonded carbon-oxygen stretching vibrations around $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ for the Amide I-band. They are of particular interest in the structure determination of proteins, since conclusions can be drawn regarding the protein's secondary structure [24]. In case of plasma induced decomposition of the hair material a significant decrease within the Amide-bands would be expected revealing a peak at approximate $1735 \pm 50 \text{ cm}^{-1}$ (carbonyl band). This peak would either result from decomposition of the cuticle itself, affecting the α -helix directly, or from a significant etching process of the cuticle which than would expose the medulla. The IR-signal of an exposed medulla would show significant signal in the carbonyl region itself, as is shown by Chan *et al* [25].

The combined analyses of XPS and SNOM data show that the chemical composition was not considerably altered by the plasma treatment. Not only does the XPS data show a stoichiometric intact surface but the SNOM measurements clarify that not even the secondary structure was altered. Human hair consists mainly of keratin which has a α -helical secondary structure [26] that, when intact, corresponds to the observed peak of $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ [24].

Considering the relatively small dimensions of the discharge region of a filament ($\varnothing \approx 50 \mu\text{m}$ [27]), the diameter of a human hair is roughly in the same order of magnitude. With an estimated number of filaments of approximate 1000 s^{-1} (pulse repetition rate = 1 kHz), only 5 microfilaments hit the sample surface per unit area with every transition of the PlaCo, considering a transition velocity of $v = 1 \text{ cm s}^{-1}$. This is giving an idea of the relatively low level of stress submitted onto the sample surface, explaining the small alterations in surface chemistry visible in XPS/SNOM analysis.

To analyse the possible impact of a plasma treatment on the topography of a human hair, samples were investigated using SEM analysis. Since the investigations using XPS and SNOM did show no significant changes of the surface of the hair material, only negligible mechanical impact on the hair material was expected. The images taken from the reference sample revealed a typical picture, showing cuticle scales and enclosing material, which can be taken to be the surrounding biofilm consisting of lipids and proteins [28–30] or conditioner remnants [23]. After the first treatment, the picture (figure 5(b)) shows an impact of the treatment, which can be considered as a beginning removal of these layers of the hair. With increased treatment duration, the effect is evolving over time and is furthermore affecting isolated scales leading to a partial lift-off from the bulk material (see figures 5(c)–(e)) giving a smoothening effect to treated hairs. To which extent the removed layers consist of natural lipids or can be considered conditioning remnants might pose an interesting scientific issue for a follow-up study.

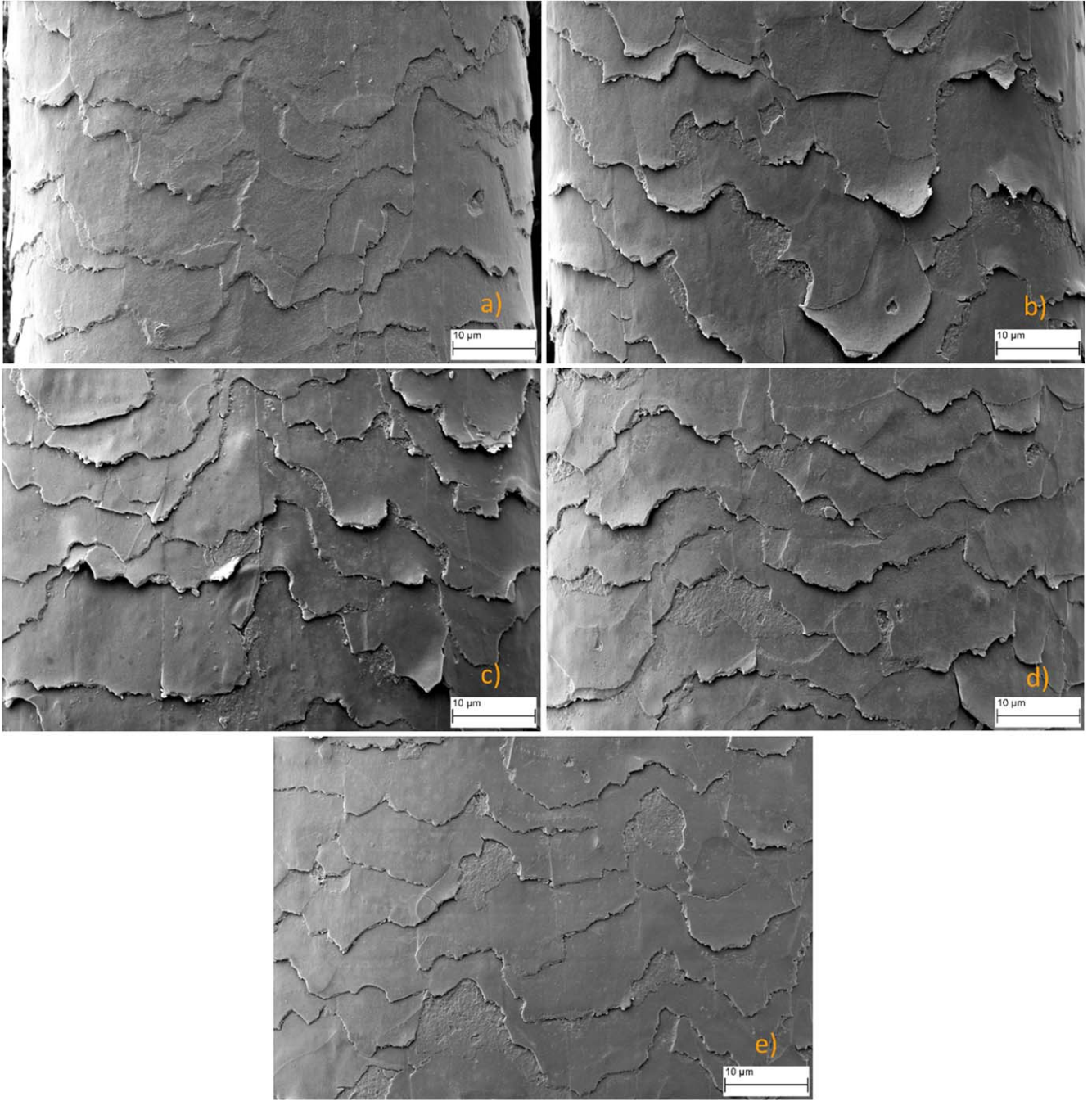


Figure 5. SEM scans of different hair samples comparing plasma treated samples ((b) (e)) to a reference sample (a); number of treatments of the samples: (a) 0× (reference), (b) 1×, (c) 10×, (d) 20×, (e) 30×. The pictures were recorded with: $U_a = 5$ kV; $I_{\text{Probe}} = 70$ pA; $P_{\text{vac}} = 4.14 \times 10^{-6}$ mbar and a magnitude of 1750×.

Therefore, it can be concluded that no changes were inflicted to the secondary structure of the hair material and the sporadic removal of scale elements lies significantly below $5 \mu\text{m}$ [23]. Otherwise, SNOM spectroscopy would be indicating these effects via the occurrence of carbonyl bands subsequent to plasma treatment [25].

The presented study shows that, although highly effective against the test organism *Pediculus humanus humanus*, the impact of the treatment on the hair material is only small. Whether the removal of scales, thus a smoothening of the hair surface, is posing a negative or even a positive effect cannot

be answered at this point and requires further experiments. Additionally, it is interesting and planned to study the effect of a plasma treatment on parameters like gloss and colour. The analysis of the mechanical properties of human hair material subsequent to plasma treatment, e.g. via measurements of hardness and Young's modulus through nano-indentation techniques as well as the measurement of moisture content of a treated hair (via time-domain reflectometry or gravimetric analysis) is part of future studies and will be presented in a dedicated publication.

Acknowledgments

This research was funded by the German Federal Ministry of Science and Culture via the Niedersächsisches Vorab: Volkswagen Stiftung (No. ZN 2779). We thank the Federal State of Lower Saxony and the DFG for the funding of the XPS System within the funding code INST 196/8-1 FUGG. This research was further funded by the BMBF (funding code: 03X5519B) enabling the acquisition of the SNOM system. The support within the joint research focus project is gratefully acknowledged.

The authors furthermore want to thank Dr Michaela Zauner (Georg August University) for the technical support during the conduction of the SEM measurements, as well as Dominik Siebert for the fruitful discussion.

ORCID iDs

Lars TEN BOSCH  <https://orcid.org/0000-0002-4322-5985>
Philipp SAUERBIER  <https://orcid.org/0000-0001-5023-8568>
Robert KÖHLER  <https://orcid.org/0000-0002-2590-0553>
Georg AVRAMIDIS  <https://orcid.org/0000-0003-1252-404X>
Wolfgang VIÖL  <https://orcid.org/0000-0003-3425-9937>

References

- [1] Frankowski B L and Bocchini J A 2010 *Pediatrics* **126** 392
- [2] Abdel Ghaffar F *et al* 2012 *Parasitol. Res.* **110** 277
- [3] Ihde E S *et al* 2015 *BMC Pediatr.* **15** 70
- [4] Habedank B 2010 Läuse Biologie, medizinische Bedeutung und Bekämpfung *Krank durch Athropoden Denisia* ed H Aspöck 1st edn (Linz: Plöchl Druck GmbH & Co. KG) vol 30, pp 191–212
- [5] Cummings C, Finlay J C and MacDonald N E 2018 *Paediatr. Child Health* **23** e18
- [6] Loomis D *et al* 2015 *The Lancet Oncol.* **16** 891
- [7] Durand R *et al* 2011 *J. Med. Entomol.* **48** 73
- [8] Durand R *et al* 2012 *Clin. Microbiol. Infect.* **18** 338
- [9] Mumcuoglu K Y 1999 *Paediatr. Drugs* **1** 211
- [10] Yang Y C *et al* 2003 *J. Agric. Food Chem.* **51** 4884
- [11] ten Bosch L *et al* 2019 *Int. J. Environ. Res. Public Health* **16** 19
- [12] Öngel C *et al* 2015 *J. Bio Tribo Corros.* **1** 7
- [13] Arndt S *et al* 2015 *PLoS One* **10** e0120041
- [14] Amenabar I *et al* 2013 *Nat. Commun.* **4** 2890
- [15] Keilmann F and Hillenbrand R 2004 *Philos. Trans. Roy. Soc. A: Math. Phys. Eng. Sci.* **362** 787
- [16] Gokus T, Huth F and Huber A 2015 *Microsc. Microanal.* **21** 1871
- [17] Mastel S *et al* 2018 *ACS Photonics* **5** 3372
- [18] Beard B C *et al* 2005 *Int. J. Cosmet. Sci.* **27** 192
- [19] Molina R *et al* 2005 *Appl. Surf. Sci.* **252** 1417
- [20] Zhao Z Q *et al* 2015 *RSC Adv.* **5** 73980
- [21] Gobbo P *et al* 2013 *Chem. Commun.* **49** 3982
- [22] Okamoto M *et al* 2012 *Surf. Interface Anal.* **44** 736
- [23] Bhushan B 2008 *Prog. Mater. Sci.* **53** 585
- [24] Barth A 2007 *Biochim. Biophys. Acta* **1767** 1073
- [25] Chan K L A *et al* 2005 *Appl. Spectrosc.* **59** 149
- [26] Cruz C F *et al* 2013 *Int. J. Cosmet. Sci.* **35** 244
- [27] Rajasekaran P 2011 Atmospheric pressure dielectric barrier discharge (DBD) in air: plasma characterisation for skin therapy *PhD Thesis* Ruhr Universität Bochum
- [28] Barton P M J 2011 The SNOM analysis of the treated samples is in good compliance with the XPS data *PhD Thesis* Queensland Institute of Technology
- [29] Swift J A 1981 The Hair Surface Hair Research: Status and Future Aspects *Proc. 1st Int. Congress on Hair Research Hamburg March 13th–16th, 1979* ed C E Orfanos (Berlin: Springer) pp 65–72
- [30] Negri A P, Cornell H J and Rivett D E 1993 *Text. Res. J.* **63** 109

Erläuterungen zu den AutorInnen

Erklärung zu den Author Contributions der in der kumulativen Dissertation von Lars ten Bosch angeführten Veröffentlichung:

Effects of a newly devised plasma lice comb on human hair

Autoren: Lars ten Bosch, Andreas Huber, Philipp Sauerbier, Robert Köhler, Georg Avramidis, Wolfgang Viöl

Journal: Plasma Science and Technology; 2019; 21(12)

doi: 10.1088/2058-6272/ab428b (Web of Science Impact Factor: 1.193 (2019))

Ideen, Entwürfe, Planungen und Durchführungen zu den in dieser Veröffentlichung präsentierten Untersuchungen liegen bis auf die im Folgenden genannten Ergänzungen in Gänze bei Herrn Lars ten Bosch.

a. Untersuchungen zum Einfluss des Plasmaläusekamms auf Haarmaterial mittels SNOM

Mitwirkende: Dr. Andreas Huber, Herr Philipp Sauerbier

Trotz eines an der HAWK existierenden NeaSNOM-Geräts wurden die in der vorliegenden Veröffentlichung dargestellten Untersuchungen mittels der nahfeldoptischen Infrarotspektroskopie ergänzend in den Laboren der NeaSpec GmbH in München-Haar durchgeführt. Dies geschah auf Initiative des Herrn Lars ten Bosch, um die gemachten Erkenntnisse an einer neueren Anlagenversion des NeaSNOMs insbesondere mittels spektroskopischer Punktmessungen weiter zu verifizieren.

Versuchsdesign und Durchführung der Untersuchungen lagen hierbei vollständig bei Herrn Lars ten Bosch. Die Datenakquise an den Geräten der NeaSpec GmbH wurden von Dr. Andreas Huber begleitet. Aufgrund der möglichen, minimalen Abweichung mittels SNOM aufgezeichneter Spektren im Vergleich zu Standard-FTIR-Spektren standen Herr Dr. Andreas Huber (SNOM) und Herr Philipp Sauerbier (Standard-FTIR) darüber hinaus bei der Auswertung der

entstandenen Ergebnisse durch Herrn Lars ten Bosch als Diskussionspartner zur Verfügung. Herr Philipp Sauerbier verifizierte hierbei zusätzlich die dargestellten Ergebnisse unter Verwendung einer an der Georg-August-Universität entstandenen FTIR-Auswertesoftware.

b. Untersuchungen zur Einfluss des Plasmaläusekamms auf Haarmaterial mittels XPS

Mitwirkende: Herr Dr. Robert Köhler, Dr. Georg Avramidis

Die Ideen und Versuchsentwürfe sowie Probenpräparation und Durchführung der in der vorliegenden Veröffentlichung dargestellten Ergebnisse der XPS-Messungen sowie deren Auswertung lagen bei Herrn Lars ten Bosch. Die Durchführung der Messungen wurden von Herrn Dr. Robert Köhler begleitet.

Dr. Georg Avramidis begleitete die SNOM Messungen am HAWK-internen SNOM Gerät. Darüber hinaus standen Herr Philipp Sauerbier, Herr Dr. Robert Köhler sowie Herr Dr. Georg Avramidis für Diskussionen bezgl. der Vergleiche zwischen den Ergebnissen aus SNOM und XPS zur Verfügung.

Mitwirkender: Prof. Dr. Wolfgang Viöl

Prof. Dr. Wolfgang Viöl oblag die generelle Supervision und die wissenschaftliche Leitung des Projekts: „Plasmagestützte Schädlingsbekämpfung im Alltag“ (Projekt-Nr. ZN 2779 und ZN 2872), in dessen Rahmen die präsentierten Untersuchungen stattfanden. Darüber hinaus stellte Prof. Dr. Wolfgang Viöl die zur Durchführung der Versuche notwendigen Mittel und Infrastruktur zur Verfügung und unterstützte die Diskussion der Ergebnisse.

Alle weiteren Arbeiten, wie z.B. die Anfertigung des Texts, der Grafiken und Abbildungen zur Veröffentlichung sowie die Interpretation und Diskussion der Ergebnisse im Kontext der genannten Literatur lagen vollständig bei Herrn Lars ten Bosch. Die dargestellten Ergebnisse wurden von allen Autoren auf Plausibilität geprüft. Der veröffentlichte Text wurde von allen Mitautoren redigiert.

5.3 Insektizide Wirkung plasmabehandelten Wassers

Die Wechselwirkung von Plasmen mit insbesondere biologischen bzw. natürlichen Substraten ist ein komplexer Prozess mit einer Vielzahl von Einflussfaktoren. So können z. B. Geometrie, Oberflächenrauigkeit und Leitfähigkeit der Probe das Verhalten einer Plasmaentladung beeinflussen [181]. Einer der wichtigsten Faktoren, welcher die Auswirkung einer Plasmabehandlung auf das Probenmaterial maßgeblich beeinflusst, ist die Feuchtigkeit während der Versuchsdurchführung. Dies betrifft sowohl die Feuchtigkeit der verwendeten Arbeitsgase [182–184], als auch die Feuchtigkeit der Substrate selber [185, 186]. Die bei einer Plasmabehandlung von feuchten bzw. flüssigen Substraten auftretenden Effekte sind in jüngster Zeit verstärkt untersucht worden und bieten eine hohe Anwendungsbreite [187–189].

Die bei der Plasmaexposition generierten Spezies, welche durch Wechselwirkung mit der Grenzschicht der behandelten Feuchtigkeitfilme in das *bulk*-Material der Probe diffundieren, führen hierbei zu einer Funktionalisierung der Flüssigkeiten. In der Regel werden die so behandelten Flüssigkeiten als sogenannte *PAL*, englisch für *Plasma Activated Liquids*, also plasmaaktivierte Flüssigkeiten, bezeichnet. Die deutsche Bezeichnung lautet PAM (plasmaaktivierte Medien) bzw. PAW (plasmaaktiviertes Wasser). Die so behandelten Flüssigkeiten weisen einen starken Anstieg von Nitriten und Nitraten auf. Ebenso tritt in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer eine Ansäuerung der behandelten Flüssigkeiten auf. Um eine Absenkung des pH-Werts zu vermeiden müssen Pufferlösungen verwendet werden. Diese *PAW* zeichnen sich sowohl durch ihre desinfizierende Wirkung [33, 190, 191], also auch durch ihre proliferierende Wirkung beim Einsatz im Pflanzenbau aus [192].

Diese zwei Grundeigenschaften von *PAW/PAM* bieten für die Lebensmittel- und Agrarbranche interessante Alternativen zum Einsatz herkömmlicher Mittel. Die erfolgreiche Suche nach nicht-toxischen, alternativen Behandlungsmethoden von Pflanzenkrankheiten wie z.B. Mehltau ³¹, Feuerbrand ³² oder z.B. Stein- o. Stinkbrand ³³ wird umso wichtiger, je stärker umweltpolitische Regulierungen greifen und die Einsatzmöglichkeiten klassischer Behandlungsmittel einschränken. Ferner können alternative, pestizidfreie Methoden wie die Plasmatechnologie die Möglichkeit bieten einen technischen Pflanzenschutz auch im Bereich des Bio- und

³¹Mehltau: pilzbürtige Infektionskrankheiten mit typischer mehlarziger Mycelbildung

³²Feuerbrand: bakterienbürtige Infektionskrankheit von Gehölzen mit typischem, verbranntem Schadbild

³³Stein- o. Stinkbrand: pilzbürtige Infektionskrankheit von Getreide

Ökolandbaus zu gewährleisten, ohne hierbei der Idee einer möglichst natürlichen Erzeugung der Produkte entgegenzustehen. Dies gilt auch zunehmend für die Bekämpfung von Schadinsekten.

Initiiert durch die bekannten Wechselwirkungen von technologischen Plasmen mit Flüssigkeiten im Bereich der Plasmamedizin, als auch durch die gegebene Notwendigkeit zur Entwicklung praktikabler Alternativen zu herkömmlichen Pflanzenschutzverfahren, setzt sich die vorliegende Studie zum Ziel die Möglichkeit des Einsatzes plasmabehandelter Flüssigkeiten zu Bekämpfung von Schadinsekten aufzuzeigen. Zur Klärung möglicher Wechselwirkungsmechanismen wurden die präsentierten Untersuchungen als komparative Studie durchgeführt. Hierbei wurde die Wirksamkeit plasmabehandelter Flüssigkeiten mit der Wirksamkeit chemisch angesäuerten Wassers verglichen.

Vor der Durchführung der Studie waren die Auswirkungen direkt plasmabehandelter Flüssigkeiten beim Einsatz als Schädlingsbekämpfungsmittel weitestgehend unbekannt. In vorhergehenden Studien (Tabelle 3.1) wurden bislang ausschließlich Effekte einer direkten Plasmaexposition unterschiedlicher Schadinsekten untersucht. Eine Anreicherung von Wasser mit Ozon war hingegen durchaus bekannt und die Wirksamkeit dieser Flüssigkeiten konnte z.B. durch *Ebihara et al.* [90] demonstriert werden.

Die untersuchten, plasmabehandelten Flüssigkeiten zeigten ein aus bisherigen Studien bekanntes Verhalten (signifikante Absenkung des pH-Wertes der Flüssigkeit, signifikanter Anstieg des Nitrit-/Nitratgehalts). Die in dieser Studie verglichenen, chemisch angesäuerten und plasmaaktivierten Medien zeigen ähnliche Wirksamkeit, wodurch der Eindruck entstehen kann, dass sich der insektizide Effekt des plasmabehandelten Wassers auf den eingestellten pH-Wert reduzieren ließe. Die Generierung weiterer reaktiver Spezies in *PAW's*/*PAM's* und die hieraus resultierende Wirksamkeit sollte jedoch nicht vernachlässigt werden. Erste Feldversuche weisen darauf hin, dass die zugrundeliegenden Wirkmechanismen deutlich komplexerer Natur sind. So zeigten sich bei einer größer angelegten Verwendung der *PAW's* in Gewächshäusern erste Hinweise darauf, dass *PAW's*, welche über einen längeren Zeitraum ($> 48h$) gelagert wurden, trotz eines konstanten pH-Werts keine Wirksamkeit mehr gegenüber der in dieser Studie verwendeten Schädlingsart *Planococcus citri* haben.³⁴ Die Untersuchungsreihen zum Vergleich plasmaaktivierter Wässer

³⁴Die bisherige Datenlage in diesem Bereich ist aktuell noch unveröffentlicht und bedarf weiterer Untersuchungen.

mit chemisch Angesäuerten wurden im nachfolgenden Fachartikel publiziert.

Quelle Originalveröffentlichung:

Lars ten Bosch, Robert Köhler, Rinat Ortmann, Stephan Wieneke, Wolfgang Viöl

Insecticidal Effects of Plasma Treated Water

Journal: International Journal of Environmental Research and Public Health; 2017; 14(12);

doi: 10.3390/ijerph14121460

(Web of Science Impact Factor: 2.468 (2017))

Insecticidal Effects of Plasma Treated Water

Lars ten Bosch^{1,*}, Robert Köhler¹, Rinat Ortmann¹, Stephan Wieneke¹ and Wolfgang Viöl^{1,2}

¹ Faculty of Natural Sciences and Technology, University of Applied Sciences and Arts, Von-Ossietzky-Strasse 99/100, 37085 Göttingen, Germany; robert.koehler@hawk-hhg.de (R.K.); rinat.ortmann@hawk-hhg.de (R.O.); stephan.wieneke@hawk-hhg.de (S.W.); wolfgang.vioel@hawk-hhg.de (W.V.)

² Fraunhofer IST Application Centre, Von-Ossietzky-Strasse 100, 37085 Göttingen, Germany

* Correspondence: Lars.Bosch@hawk-hhg.de or L.tenBosch@T-Online.de; Tel.: +49-551-3705-361

Received: 12 October 2017; Accepted: 22 November 2017; Published: 27 November 2017

Abstract: The efficacy of plasma-treated tap water (PTW) for the possible treatment of a mealybug (*Planococcus citri*) infestation was studied under laboratory conditions. Mealybugs growing on *Nerium oleander* have been treated using PTW after being transferred to Petri dishes, thus avoiding possible buffering effects that might occur in an in-situ study. When treating tap water with a dielectric barrier discharge for several minutes (1, 3, 5 and 10 min) a distinct acidification of the water can be determined, resulting in a pH value of 1.8 after 10 min treatment. The efficacies of the treated tap water samples were compared to the efficacies achieved using classically acidified water. The classical acidification of tap water was carried out using nitric acid and hydrochloric acid to see any possible influences of the salt of the acid in question. The application of PTW revealed high mortality rates of approx. 90% after an observation period of 24 h. PTW appears promising for the treatment of smaller plant stock and commodities as produced by small scale farmers or in greenhouses as an environmentally friendly substitute or supplement to conventional pesticides.

Keywords: atmospheric pressure plasma; plasma; pest treatment; tap water; mealybug; *Planococcus citri*; plasma-based pest management

1. Introduction

Scale insects and other plant pest such as for example different aphids, infect cultivated plants [1], arable crops [2] as well as different tree species during all growing seasons [3]. Besides the direct impact on yield and quality, scale insects and aphids play a prominent role as vectors for other pests [4]. Their appearance is connected to closteroviridae infestations which are themselves affiliated with the little cherry disease [5], virus-associated grapevine leafroll [6] and rugose wood complex disease [7], and more. Common pests, occurring in almost every part of the world and in a vast variety of different genera are mealybugs. They belong to the *Pseudococcidae* family within the order of *Hemiptera*, which includes many pests, whose damage mainly involves impairment of the host plant due to sucking out the plant sap. Furthermore, mealybugs secrete large amounts of honeydew. These secretions are subsequently colonized by *Ascomycete* fungi, commonly referred to as sooty mold. Found on a variety of host plants, ranging from different coffee, vine, cotton and citrus plants, etc. mealybugs cause huge economic damage [8–10]. Their frequent occurrence, as well as their feeding behaviour on all plant parts, above ground as well as on root material depending on the genera, have made the mealybug a pest of interest for the pest treatment method presented here, as it offers promising applications both in the pest treatment as well as in the growth promotion field.

Generally, common pest treatment methods range from chemical treatment to ecological and biological methods to physical approaches. Most chemical pest treatment remedies work with active

substances which originate e.g., from the groups of organochlorides, organophosphates, carbamates, neonicotinoids, diamides, rotenoids a.m.m. or derivatives thereof [11–13]. These chemicals are applied to crops and cultivated plants in different forms (emulsions, dry powder, aerosols, fumigation). The possibility of coming into contact with these toxins during handling, mixing and application can cause various health hazards to users.

Biological pest treatment methods focus mostly on the use of natural, non-chemical remedies. Different methods for natural pest regulation have been reported. One strategy, for example, aims at supporting existing species as well as the establishment of new predatory species [14,15] acting as natural enemies of specific pests. Furthermore, plants and plant parts prepared as pest control remedies [16] are able to contribute to a natural pest regulation, for example those used in Indian tea plantings [17].

Cultivation methods such as minimum or no-tillage approaches, inter-cropping [18] and companion planting [19] are also applied. Different concepts and the advantages thereof have been thoroughly covered within the agricultural science communities and are mostly treated under the umbrella of integrated pest management (IPM) and conservation biological control (CBC) covered by authors such as Horne and Page [20], and Barbosa [21] and others [22–25].

A relatively novel approach to control pests is based on a physical approach known as cold atmospheric pressure plasma (CAP). This plasma-based pest management (PBPM) is primarily used for the decontamination of food and feedstuffs. The applications range from the treatment of seeds [26] and seedlings [27] for the emergence of vigorous and healthy plants to degradation of food-borne pathogens [28,29] and secondary fungal metabolites [30,31]. Another aim is the plasma-based control of pest insects [32–34].

CAP's have already shown their versatility within the young field known as plasma medicine. Different pathogens and diseases have shown a high susceptibility to the technology, which was therefore able to deliver therapeutic approaches over the last decade [35,36]. Especially within the fields of dermatology and oncology, diseases ranging from chronic venous leg [37] and ulcer [38] over the enhancement of epidermal microcirculation [39] to different tumor cells [40,41] were treated with success. The plasma medicine community is working with great efforts to understand and explain the occurring interaction mechanisms when applying plasmas in moist, biological environments. In addition, the fundamental insights [42,43] from this community will greatly contribute to the understanding of pesticidal and fertilization effects applicable within the field of plasma agriculture, as well. We would like to present here our findings on a novel insecticidal approach for PBPM. A feasibility study on the application of plasma-treated tap water (PTW) as insecticide was performed and the results are presented in the following sections.

2. Materials and Methods

2.1. Preparation of Plasma Treated Liquids

A dielectric barrier discharge was generated between a high voltage electrode and a water surface situated in a beaker glass in standard air as working gas (Figure 1). The high voltage electrode (HV-electrode) is composed of a copper powder core embedded in an Al_2O_3 ceramic. The ceramic is functioning as dielectric barrier (diameter ≈ 8 mm) producing a filamentary discharge at ambient pressure. High voltage was supplied via a power supply build in our laboratories giving the parameter set as displayed in Table 1. The high-voltage generation is based on the principle of a flyback converter. In addition to the usual design, a capacitor is located parallel to a switching transistor. Together with the primary winding of the high-voltage transformer, this setup forms a resonant circuit which is tuned to the resonance of a corresponding resonant circuit on the secondary side of the high-voltage transformer. The power is supplied via a 24 V DC-voltage source. The switching transistor is controlled by a microprocessor. The duty cycle of the transistor determines the amplitude of the generated high voltage. The switch-off time between two pulses is variable and selected in a way that ensures

the remaining oscillation of the system to decay sufficiently, leaving the next high voltage pulse as unaffected as possible. Input parameter measurements were performed using a DLM2054 oscilloscope (Yokogawa, Musashino, Japan), a P6015A high voltage probe (Tektronix, Beaverton, OR, USA) and a Pearson current monitor model 2877 (Pearson Electronics, Palo Alto, CA, USA) to calculate the power input via U/I-method. The treatment times ranged from 1 min and 3 min to 5 min up to 10 min. To avoid losses, due to evaporation, a lid was applied to the beaker glass.

The HV-electrode was introduced into 20 mL beaker glass filled with 1 mL and 3 mL liquid, respectively. The effect of a plasma treatment was tested using standard tap water and deionised water. The whole setup was placed on a grounded aluminium plate. The electrode gap was fixed at distance of ≈ 3 mm above the liquid surface. No cooling of either the HV-electrode or the water sample was provided. The related temperature progression of the treated liquid quantities is displayed in the results Section 3.1. The temperature measurements were conducted using a UMI4 Universal Multichannel Instrument fibre optical temperature sensor utilising a FOT-L-SD-C1-F1-M2-R1-ST fibre optical sensor (both components from FISO Technologies Inc., Ville de Québec, QC, Canada). Small volumes of water were used to enable the quick production of water keeping the treatment times at a minimum. Comparing the volumes of 1 mL and 3 mL, a first impression concerning the dependence of the generation efficiency of different species with respect to the volume of water is given. The final experiments using PTW on mealybugs were performed using 1 mL of standard tap water.

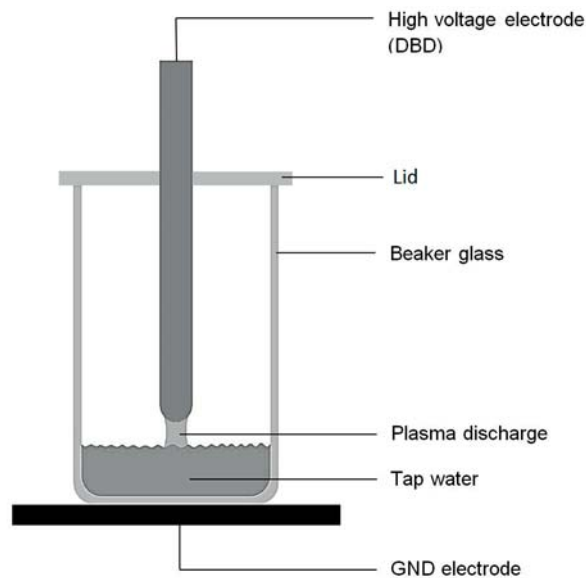


Figure 1. Experimental Setup for plasma treatment of regular tap water.

Table 1. Input parameters for experimental setup.

Input Parameter	Value
Electric power	≈ 11 W
Power density	≈ 5 W/cm ²
Discharge gap	3 mm
Appl. voltage	≈ 30 kV (p-p)
Natural frequency	≈ 200 kHz
Puls rep. Rate	14 kHz
Waveform	decaying sine

2.2. Water Analysis

To avoid the use of liquids displaying particular requirements, the study focused on the use of regular tap water as pesticide. A comparison between regular tap water and deionised water was

conducted to find possible deviations, when treated with a DBD. The analytical values of the tap water were provided by the Municipal Utilities of Göttingen, as published in Stadtwerke Göttingen AG [44]. Four parameters of the treated liquids were monitored (pH value, concentrations of nitrite, nitrate and hydrogen peroxide) as well as their development during the application of the air plasma before and during the experiments. The nitrate/nitrite and hydrogen peroxide measurements were performed using a reflectometer RQflex 10 (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) applying tests no. 1.16971.0001 (nitrate); no. 116732 (nitrite) and no. 116974 (hydrogen peroxide). To compensate the crosstalk of the nitrate and nitrite during the tests, the liquids were diluted according to manufacturer specifications. Evaluation of pH values was conducted using a FiveEasy FE20 pH-electrode with measuring probe LE438 pμ (Mettler Toledo, Columbus, OH, USA). As the analytical measurements of the four parameters demand the temperature of the tested liquid to be max. 20 °C. All measurements were performed after a 5 min cooling phase following the respective treatment at ≈19 °C.

2.3. Classically Acidified Water

A comparison of plasma-treated tap water (PTW) with two classically acidified waters (CAW) was conducted using hydrochloric acid and nitric acid (Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Germany), respectively. This comparison serves two purposes; firstly, to visualize possible effects of PTW induced through plasma treatment other than mere acidification. Secondly, to discover possible influences of the respective salt of the acid in action. The pH values of the acidified water samples were adjusted according to the pH value of the produced PTW of ≈1.8. To avoid any side effects of possible tap water constituents the CAW were prepared using deionized water, using a Smart2Pure 3 UV/UF water purification system (Thermo Scientific, Barnstead, Waltham, MA, USA).

2.4. Test Organism *Planococcus citri*

Ex-situ tests were performed using mealybugs (*Planococcus citri*) to test the effectivity of the produced liquids as potential pesticide. The mealybugs were collected from greenhouses feeding on *Oleander nerium* (plants and organisms were kindly provided by the project partner W. Neudorff GmbH KG, Emmerthal, Germany). The specimens were bred under controlled conditions in a greenhouse setup, adjusting the lighting periods to 16 h/day at 20 °C. After carefully removing the individuals from the host plants, the vitality and mechanical integrity of each individual was assessed. The vitality tests were carefully performed using a binocular light microscope (Euromex Microscopen BV, Arnheim, The Netherlands) evaluating behaviour and torso movement response to tactile stimuli using bent tweezers (Manufactures D'Outils Dumont SA, Montignez, Switzerland).

To determine the pesticidal activity of PTW (positive control, n = 50), as well as of the two CAW (positive control, n = 100) the mealybugs were treated in an ex-situ environment using petri dishes (90 mm diameter × 15 mm height, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Germany). Simultaneously, identically large negative controls were tested for mortality rates. Regular tap water functioned as a negative liquid control, as a non-pesticidal liquid to account for possible side effects, such a suffocation. Completely untreated mealybugs placed in a petri dish environment without any liquids being applied served as negative dry control. The ex-situ setup was chosen to avoid possible buffering or side effects originating from the habitat environment i.e., plants of *Oleander nerium*.

The petri dishes were prepared by applying one droplet of 2 μL liquid per individual onto the surface of each dish. The droplets were applied using an Eppendorf Research plus pipette with a working range of 0.1–2.5 μL (Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Subsequently the mealybugs were transferred directly into the droplets, at a rate of one individual per droplet (see Figure 2a). This procedure was repeated for every test solution (PTW, CAW and TW). The dry reference samples were also transferred to a petri dish. All dishes were closed with their standard cover, no sealant applied, and stored at a room temperature of 20 °C for the duration of the experiment. A vitality assessment was carefully performed after 1 h, 3 h and 24 h, following the same procedure of tactile testing as described above. All consumable materials were purchased from Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Germany.

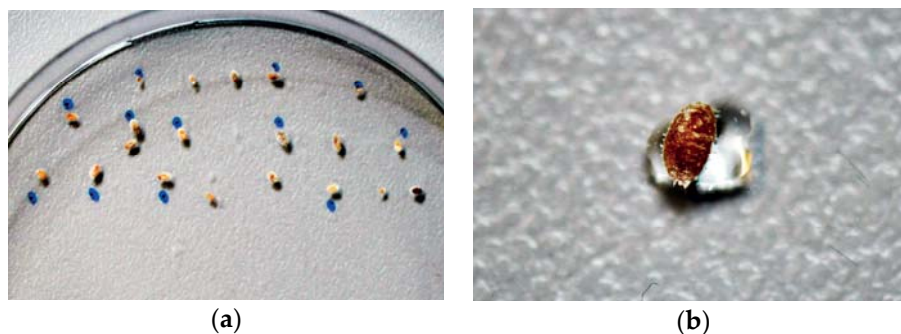


Figure 2. (a) Petri dish containing one test group of 20 mealybugs, each placed on one droplet (2 μL) of test liquid CAW; (b) Close-up of (a) single mealybug transferred to a test liquid droplet of PTW placed in a petri dish (droplet volume = 2 μL).

3. Results

3.1. Analysis of PTW

The generation of PTW, which was later applied to the mealybugs, was carried out by CAP treatment of regular tap water in air, for several minutes (setup see Figure 1). Part (a) of Figure 3 shows the behaviour of a liquid volume of 1 mL during the DBD treatment. Part (b) depicts the behaviour of 3 mL of liquid. The pH values, depicted in Figure 3, together with the values of NO_3^- show the direct correlation between pH values and nitrate concentration of the liquid, as H^+ and NO_3^- ions must show equimolar distributions. H_2O_2 shows a notable increase after 5 min treatment time in the 1 mL liquid volume. The hydrogen peroxide in 3 mL liquid volume is rising immediately to decrease after 1 min treatment time, correlating with a pH value of less than 5. After this significant drop the H_2O_2 concentration rises again slowly after approx. 5 min of treatment time.

The treated liquid volume of part (a) of Figure 3 is 1/3 of the liquid volume in part (b) of same figure. The development of the pH-value is correlating directly with the product of liquid volume and treatment time, i.e., similar pH-values are reached after identical volume treatment times (in min/mL).

To effectively reduce the time for the conduction of the trials the following experiments were performed using liquid volumes of 1 mL, only. This measure reduced the necessary treatment time of TW to 3 min (compare Figure 3). The generation process is reliable and repeatable concerning the necessary treatment times per mL to obtain identical pH, nitrate, nitrite and hydrogen peroxide values (see standard deviation Figure 3; compare concentrations of 1 mL after 3 min and 3 mL after 10 min). Although, the hydrogen peroxide concentration is rising after 10 min treatment time to approx. 50 mg/L the following experiments were conducted using 1 mL TW treated for 3 min. Deionized water and regular tap water show an overall similar behaviour concerning the four substances under observation.

As mentioned in Section 2.1, the temperature during the treatment was evaluated using a fibre optical thermometer for online temperature monitoring. The temperatures behaviour of the different liquid volumes are displayed in Figure 4. No significant deviation of the temperature behaviour between tap water and deionized water could be measured. Therefore, Figure 4 displays the behaviour of the different tap water volumes, representatively.

Due to the more general availability of tap water, when thinking about larger applications of PTW, it was decided to conduct the following ex-situ experiments using TW for PTW preparation only.

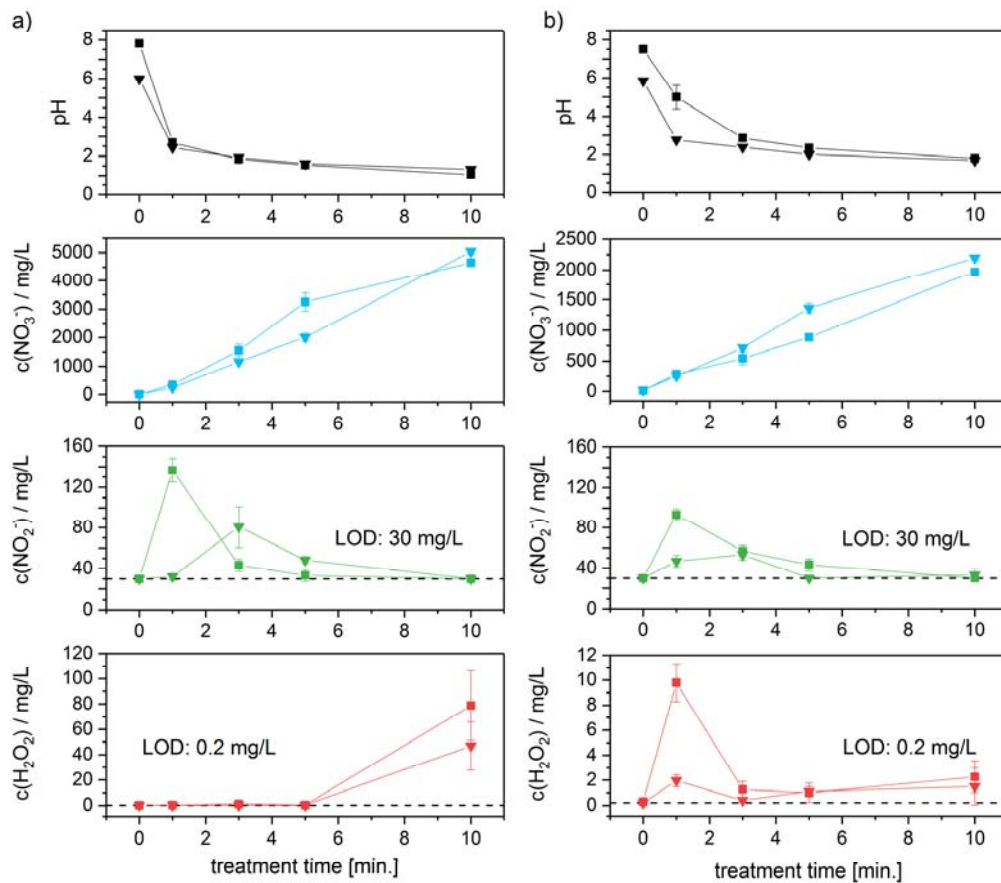


Figure 3. Development of concentration of pH, nitrate, nitrite and hydrogen peroxide due to CAP-treatment of (a) 1 mL treated liquid volume and (b) 3 mL treated liquid volume. The ■ data points show the behaviour of regular tap water ($n = 3$), whereas the ▼ data points depict the behaviour of deionized water ($n = 3$). Reducing the liquid volume from 3 mL to 1 mL the necessary treatment time to obtain comparable values of pH, nitrate, nitrite and hydrogen peroxide is reduced to 1/3, accordingly.

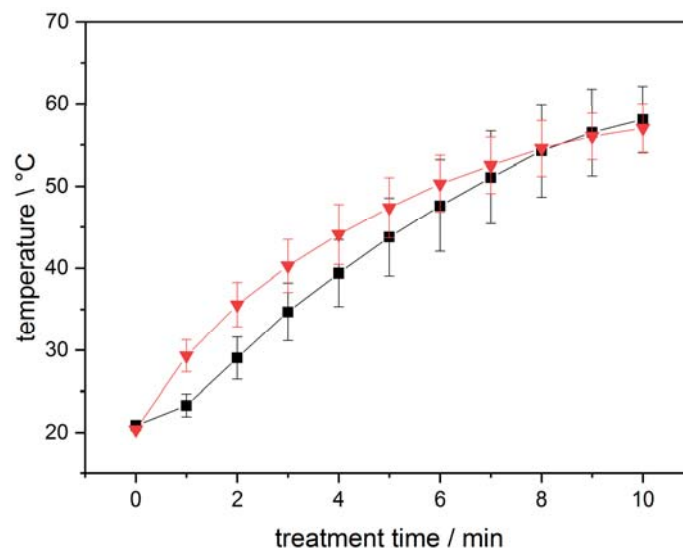


Figure 4. Temperature behaviour of 1 mL (red graph) and 3 mL (black graph) liquid during a plasma treatment using the setup displayed in Figure 1 ($n = 3$).

3.2. PTW/CAW Treatment of Mealybugs

In the following, the mortality rates (MR) of mealybugs treated with the test liquids PTW and CAW are compared to the MR's of different reference samples (dry and liquid references). During the experiment, it was observed that individuals treated with PTW or CAW showed almost no attempt of leaving the droplet areas, whereas the tap water treated samples and the dry reference samples did move around freely within the dish perimeters.

Figure 5 displays three different vitality states of the treated insects during the PTW experiments. The insects rated to be in the vital state are showing immediate response to the tactile tests (see Section 2.4). When only showing retarded reaction to tactile testing, the insects are registered in the group of moribund individuals. The individuals that show no reaction to the tactile tests as well as no movement of extremities are assigned to dead group. Depicted in Figure 6 are the MR of the PTW treated samples compared to the reference samples that were treated with regular TW as well as compared to the dry reference samples.

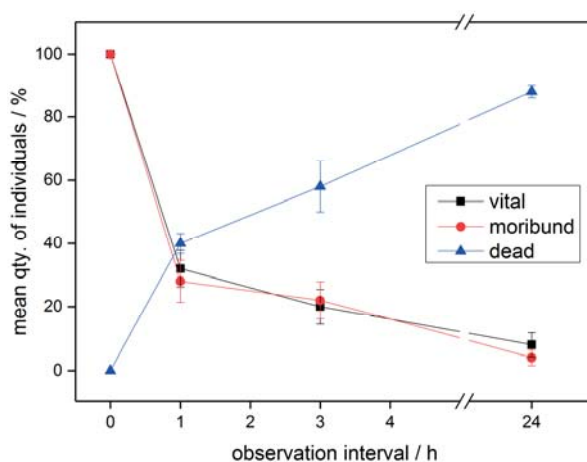


Figure 5. Development of the different vitality states vital, moribund and dead during the MR assessment after PTW treatment of mealybugs (*Planococcus citri*).

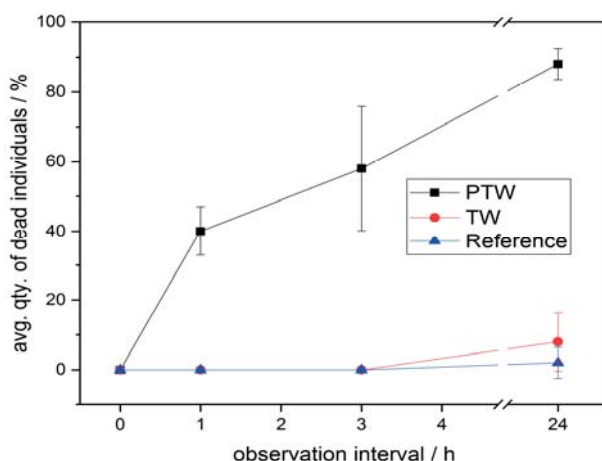


Figure 6. Comparison of mortification rates obtained using PTW and untreated TW vs. untreated reference samples. 3 replicates consisting of 10 individuals per treatment were used. The significance of differences between the treatment methods and the dry control were tested globally by one-way-ANOVA at $\alpha = 0.001$ with correction for multiple testing, according to Bonferroni. The significant differences between PTW and TW are given with $p = 6.82 \times 10^{-9}$, ($\sigma = 1$). No significant differences between TW and dry reference were found.

As depicted in Figure 7a,b, the same general behaviour is found when CAW is applied to the mealybugs instead of PTW. When comparing the effectiveness of PTW and the two applied CAW, no significant differences can be stated (see Figure 7c).

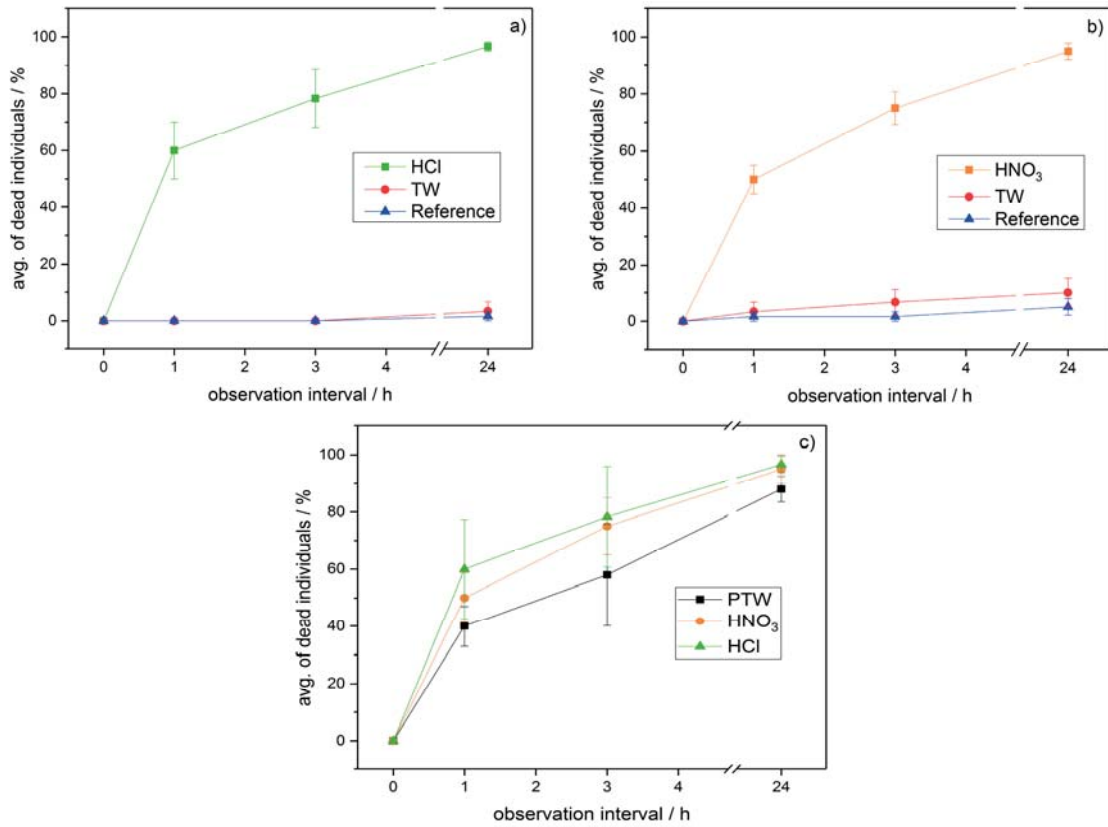


Figure 7. Mortification rates achieved using HCl (a) and HNO₃ (b) compared to untreated reference samples as well as (c) direct comparison of the mortification rates of CAW/PTW; pH of 1.8 for all liquids tested. The significance of differences between the treatment methods were tested globally by one-way-ANOVA+Bonferroni, $\alpha = 0.001$: (a) HCl/TW: $p = 1.52 \times 10^{-6}$, ($\sigma = 1$); (b) HNO₃/TW $p = 1.52 \times 10^{-6}$, ($\sigma = 1$). (c) HCl/PTW: $p = 0.008$, ($\sigma = 0$), HNO₃/PTW $p = 0.02$, ($\sigma = 0$); HNO₃/HCl $p = 1$, ($\sigma = 0$).

4. Discussion

Mealybugs, when treated by a single application of PTW ex-situ exhibit a MR of $\approx 85\%$ after 24 h. When assessing the condition of the treated individuals a tactile test was performed similar to the testing stated in Section 2.4. The PTW treated mealybug samples show significantly higher mortality rates (MR) than the TW reference samples (MR $\approx 8\%$) and untreated reference samples (MR $\approx 2\%$) as displayed in Figure 6. Although the samples had been removed from their natural habitat, thus not being able to feed during the test period, the influence on the overall MR due to hostile environment is negligible.

When comparing the effectiveness of PTW to the CAW the MR's seem comparable; also, no significant differences between the respective salt of the acid in use ($-\text{Cl}$ or NO_3^-) can be stated, as shown Figure 7c. As the pH values of the CAW were adapted precisely, according to the pH values of the PTW, the question arises why the effectiveness of PTW is lower than the effectiveness of CAW adjusted using nitric acid. It seems that other constituents of the PTW than nitric acid seem to have an influence on the mortality rate. An interesting candidate, able to further influence the effectivity of a plasma treated liquid when used as a pesticide, is hydrogen peroxide or OH radicals occurring during the generation pathway, respectively.

When applying a plasma discharge to a water surface the occurring hydroxyl radicals are offering a possible source for hydrogen peroxide. The effectivity of hydrogen peroxide formation through OH radical dimerization is depending on the applied parameter setting of each plasma source, as for example shown by Porter et al. [45] as well as Zhao et al. [46]. Examining the hydrogen peroxide concentration as depicted in Figure 3 is giving an idea of the responsible parameters. Comparing Figures 3 and 4 give an impression of the influence of the pH-value of the solution as well as possible temperature influences on the hydrogen peroxide generation. When treating a small liquid volume, the formation of hydrogen peroxide seems to become most efficient when certain liquid temperatures are achieved. It is conceivable that the elevated temperatures are causing an increase in the humidity of the treating environment. This factor could very well promote the formation of OH and H₂O₂ within the volume of the humidified air at a much larger scale, compared to the standard liquid-Gas interface as apparent in lesser humid air. OH radical dimerization is acting as the major pathway for the formation of H₂O₂ in nitrogen and helium gases, as shown by Zhao et al. [46].

5. Conclusions

Although the mortality rates of CAW and PTW are almost identical (see Figure 7c), it should be kept in mind that the possibilities of this technology and its mode of actions should not be solely reduced to acidification of liquid media, as others have mentioned before [47]. The role of hydrogen peroxide as well as of the hydroxyl radicals must be examined thoroughly. First indications show that there may be an influence of the storage period between production and application concerning the effectiveness of the produced media. First tests using life plant material are giving first indications of the relation of shorter-lived species and the overall effectiveness of the applied media.

Furthermore, generation efficiencies of the occurring produced species are strongly dependent on application parameters such as temperature of working gas during treatment, average electron energy, working gas composition and humidity etc. Therefore, the ideal parameter settings and their interdependencies are currently under investigation. The use of CAP for PTW preparation can lead to the elimination of occupational hazards due to omission of handling and transport processes of harmful chemicals when utilised, e.g., for use in a greenhouse. Furthermore, the storage of potentially harmful chemicals can be avoided, as PTW is produced on demand. The technology can lead to the development of an efficient, environmentally friendly and safe pest treatment method.

Ongoing experiments of PTW and CAW applied to infested host plants show significant reduction of colony size of *Planococcus citri* without negatively effecting the host plants (*Oleander nerium*). Beneath the application of PTW as active pesticide first experiments give a great idea of the potential of this technology concerning growth mediation as well. The use of PTW as growth mediator solely as well as in combination with a liquid fertilizer [48], did reveal promising results as well as the direct plasma pre-treatment of seedlings [26].

To further develop this treatment method to a cost effectively alternative to standard procedures the energy efficiency of those plasma systems must be addressed and is part of ongoing studies.

Acknowledgments: The funding within the project of “Plasmagestützte Schädlingsbekämpfung im Alltag (Plasma based Pest Management in Everyday Life)” of the Niedersächsisches Vorab: Volkswagen Stiftung (ZN2779) is gratefully acknowledged.

Author Contributions: Lars ten Bosch, Robert Köhler conceived and designed the experiments; Rinat Ortmann and Lars ten Bosch performed the experiments; All authors analysed the data; Wolfgang Viöl and Stephan Wieneke contributed reagents, materials and analysis tools; Lars ten Bosch and Robert Köhler wrote the paper. Wolfgang Viöl and Stephan Wieneke ultimately revised the paper.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Bach, C.E. Direct and indirect interactions between ants (*Pheidole megacephala*), scales (*Coccus viridis*) and plants (*Pluchea indica*). *Oecologia* **1991**, *87*, 233–239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Oerke, E.C. Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* **2006**, *144*, 31–43. [[CrossRef](#)]
- Cale, J.A.; Ashby, A.W.; West, J.L.; Teale, S.A.; Johnston, M.T.; Castello, J.D.; Vannini, A. Scale insects, decay and canker fungi in American beech. *For. Pathol.* **2015**, *45*, 71–75. [[CrossRef](#)]
- Selvarajan, R.; Balasubramanian, V.; Padmanaban, B. *Mealybugs as Vectors. Mealybugs and Their Management in Agricultural and Horticultural Crops*; Mani, M., Shivaraju, C., Eds.; Springer: New Delhi, India, 2016; pp. 123–130.
- Martelli, G.P.; Agranovsky, A.A.; Bar-Joseph, M.; Boscia, D.; Candresse, T.; Coutts, R.H.A.; Dolja, V.V.; Falk, B.W.; Gonsalves, D.; Jelkmann, W.; et al. The family Closteroviridae revised. *Arch. Virol.* **2002**, *147*, 2039–2044. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Sforza, R.; Boudon-Padiou, E.; Greif, C. New Mealybug Species Vectoring Grapevine Leafroll-Associated Viruses-1 and -3 (GLRaV-1 and -3). *Eur. J. Plant Pathol.* **2003**, *109*, 975–981. [[CrossRef](#)]
- Bertin, S.; Cavalieri, V.; Graziano, C.; Bosco, D. Survey of mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) vectors of Ampelovirus and Vitivirus in vineyards of northwestern Italy. *Phytoparasitica* **2010**, *38*, 401–409. [[CrossRef](#)]
- Charles, J.G. Economic damage and preliminary economic thresholds for mealybugs (*Pseudococcus longispinus* T-T.) in Auckland vineyards. *N. Z. J. Agric. Res.* **2011**, *25*, 415–420. [[CrossRef](#)]
- Cox, J.M.; Freeston, A.C. Identification of mealybugs of the genus Planococcus (Homoptera: Pseudococcidae) occurring on cacao throughout the world. *J. Nat. Hist.* **2007**, *19*, 719–728. [[CrossRef](#)]
- Nagrare, V.S.; Kranthi, S.; Biradar, V.K.; Zade, N.N.; Sangode, V.; Kakde, G.; Shukla, R.M.; Shivare, D.; Khadi, B.M.; Kranthi, K.R. Widespread infestation of the exotic mealybug species, *Phenacoccus solenopsis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae), on cotton in India. *Bull. Entomol. Res.* **2009**, *99*, 537–541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Perry, A.S.; Yamamoto, I.; Ishaaya, I.; Perry, R. *Insecticides in Agriculture and Environment*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1998.
- Ohkawa, H.; Miyagawa, H.; Lee, P.W. *Pesticide Chemistry: Crop Protection, Public Health, Environmental Safety*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2007.
- Perveen, F. *Insecticides: Advances in Integrated Pest Management*; InTech: Rijeka, Croatia, 2014.
- Jonsson, M.; Wratten, S.D.; Landis, D.A.; Gurr, G.M. Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. *Biol. Control* **2008**, *45*, 172–175. [[CrossRef](#)]
- Landis, D.A.; Wratten, S.D.; Gurr, G.M. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annu. Rev. Entomol.* **2000**, *45*, 175–201. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Epino, P.; Yang, H.-C.; Goddard, D.P.; Ahmed, S.; Grainge, M. *Handbook of Plants with Pest-Control Properties*; Wiley: New York, NY, USA, 1988.
- Roy, S.; Handique, G.; Muraleedharan, N.; Dashora, K.; Roy, S.M.; Mukhopadhyay, A.; Babu, A. Use of plant extracts for tea pest management in India. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*, 4831–4844. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Bickerton, M.W.; Hamilton, G.C. Effects of intercropping with flowering plants on predation of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs by generalist predators in bell peppers. *Environ. Entomol.* **2012**, *41*, 612–620. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Stephens, M.J.; France, C.M.; Wratten, S.D.; Frampton, C. Enhancing Biological Control of Leafrollers (Lepidoptera: Tortricidae) by Sowing Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) in an Orchard. *Biocontrol Sci. Technol.* **1998**, *8*, 547–558. [[CrossRef](#)]
- Horne, P.A.; Page, J. *Integrated Pest Management for Crops and Pastures*; Landlinks Press: Melbourne, Australia, 2008.
- Barbosa, P. *Conservation Biological Control*; Academic Press: San Diego, CA, USA, 1998.
- Van Driesche, R.G.; Simberloff, D.; Blossey, B.; Causton, C.; Hoddle, M.S.; Wagner, D.L.; Marks, C.O.; Heinz, K.M.; Warner, K.D. *Integrating Biological Control into Conservation Practice*; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, 2016.
- Winkler, K.; Wäckers, F.L.; Termorshuizen, A.J.; van Lenteren, J.C. Assessing risks and benefits of floral supplements in conservation biological control. *BioControl* **2010**, *55*, 719–727. [[CrossRef](#)]

24. Abrol, D.P.; Shankar, U. *Integrated Pest Management: Principles and Practice*; CABI: Wallingford, UK; Boston, MA, USA, 2012.
25. Pinniger, D. *Integrated Pest Management in Cultural Heritage*; Archetype Publications: London, UK, 2015.
26. Bellmann, M.; Avramidis, G.; Wascher, R.; Viöl, W. Accelerated Germination and Altered Surface Characteristics of *Pisum Sativum* Seeds after Plasma Treatment at Atmospheric Pressure. In Proceedings of the Conference Plasma Surface Engineering, Garmisch-Partenkirchen, Germany, 10–14 September 2012.
27. Zahoranová, A.; Henselová, M.; Hudecová, D.; Kaliňáková, B.; Kováčik, D.; Medvecká, V.; Černák, M. Effect of Cold Atmospheric Pressure Plasma on the Wheat Seedlings Vigor and on the Inactivation of Microorganisms on the Seeds Surface. *Plasma Chem. Plasma Process.* **2016**, *36*, 397–414. [[CrossRef](#)]
28. Misra, N.N.; Tiwari, B.K.; Raghavarao, K.S.M.S.; Cullen, P.J. Nonthermal Plasma Inactivation of Food-Borne Pathogens. *Food Eng. Rev.* **2011**, *3*, 159–170. [[CrossRef](#)]
29. Noriega, E.; Shama, G.; Laca, A.; Diaz, M.; Kong, M.G. Cold atmospheric gas plasma disinfection of chicken meat and chicken skin contaminated with *Listeria innocua*. *Food Microbiol.* **2011**, *28*, 1293–1300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Ten Bosch, L.; Pfohl, K.; Avramidis, G.; Wieneke, S.; Viol, W.; Karlovsky, P. Plasma-Based Degradation of Mycotoxins Produced by *Fusarium*, *Aspergillus* and *Alternaria* Species. *Toxins* **2017**, *9*, 97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Park, B.J.; Takatori, K.; Sugita-Konishi, Y.; Kim, I.-H.; Lee, M.-H.; Han, D.-W.; Chung, K.-H.; Hyun, S.O.; Park, J.-C. Degradation of mycotoxins using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. *Surf. Coat. Technol.* **2007**, *201*, 5733–5737. [[CrossRef](#)]
32. Ten Bosch, L.; Habedank, B.; Viöl, W. Cold atmospheric pressure plasma as insecticide-free pediculosis treatment approach. In Proceedings of the 7th International Congress of the Society for Vector Ecology, Palma, Spain, 1–6 October 2017.
33. Donohue, K.V.; Bures, B.L.; Bourham, M.A.; Roe, R.M. Mode of Action of a Novel Nonchemical Method of Insect Control: Atmospheric Pressure Plasma Discharge. *J. Econ. Entomol.* **2006**, *99*, 38–47. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Bures, B.L. Rapid Mortality of Pest Arthropods by Direct Exposure to a Dielectric Barrier Discharge. Ph.D. Thesis, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA, 2004.
35. Kong, M.G.; Kroesen, G.; Morfill, G.; Nosenko, T.; Shimizu, T.; van Dijk, J.; Zimmermann, J.L. Plasma medicine: An introductory review. *New J. Phys.* **2009**, *11*, 115012. [[CrossRef](#)]
36. Metelmann, H.-R. *Plasmamedizin*, 1st ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2016.
37. Brehmer, F.; Haenssle, H.A.; Daeschlein, G.; Ahmed, R.; Pfeiffer, S.; Gorlitz, A.; Simon, D.; Schon, M.P.; Wandke, D.; Emmert, S. Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm((R)) VU-2010): Results of a monocentric, two-armed, open, prospective, randomized and controlled trial (NCT01415622). *J. Eur. Dermatol. Venereol.* **2015**, *29*, 148–155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Emmert, S.; Brehmer, F.; Hänßle, H.; Helmke, A.; Mertens, N.; Ahmed, R.; Simon, D.; Wandke, D.; Maus-Friedrichs, W.; Däschlein, G.; et al. Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clin. Plasma Med.* **2013**, *1*, 24–29. [[CrossRef](#)]
39. Kisch, T.; Schleusser, S.; Helmke, A.; Mauss, K.L.; Wenzel, E.T.; Hasemann, B.; Mailaender, P.; Kraemer, R. The repetitive use of non-thermal dielectric barrier discharge plasma boosts cutaneous microcirculatory effects. *Microvasc. Res.* **2016**, *106*, 8–13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Schlegel, J.; Köritzer, J.; Boxhammer, V. Plasma in cancer treatment. *Clin. Plasma Med.* **2013**, *1*, 2–7. [[CrossRef](#)]
41. Vandamme, M.; Robert, E.; Pesnel, S.; Barbosa, E.; Dozias, S.; Sobilo, J.; Lerondel, S.; Le Pape, A.; Pouvesle, J.-M. Antitumor Effect of Plasma Treatment on U87 Glioma Xenografts: Preliminary Results. *Plasma Process. Polym.* **2010**, *7*, 264–273. [[CrossRef](#)]
42. Wende, K.; Williams, P.; Dalluge, J.; van Gaens, W.; Aboubakr, H.; Bischof, J.; Woedtke, T.; von Goyal, S.M.; Weltmann, K.-D.; Bogaerts, A.; et al. Identification of the biologically active liquid chemistry induced by a nonthermal atmospheric pressure plasma jet. *Biointerphases* **2015**, *10*, 29518. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Adamovich, I.; Baalrud, S.D.; Bogaerts, A.; Bruggeman, P.J.; Cappelli, M.; Colombo, V.; Czarnetzki, U.; Ebert, U.; Eden, J.G.; Favia, P.; et al. The 2017 Plasma Roadmap: Low temperature plasma science and technology. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2017**, *50*, 323001. [[CrossRef](#)]

44. Stadtwerke Göttingen AG. Wasseranalyse der Stadtwerke Göttingen AG. 2016. Available online: <https://www.stadtwerke-goettingen.de/produkte/wasser/wasseranalyse/> (accessed on 30 March 2017).
45. Porter, D.; Poplin, M.D.; Holzer, F.; Finney, W.C.; Locke, B.R. Formation of Hydrogen Peroxide, Hydrogen, and Oxygen in Gliding Arc Electrical Discharge Reactors with Water Spray. *IEEE Trans. Ind. Appl.* **2009**, *45*, 623–629. [[CrossRef](#)]
46. Zhao, Y.Y.; Wang, T.; Wilson, M.P.; MacGregor, S.J.; Timoshkin, I.V.; Ren, Q.C. Hydroxyl Radicals and Hydrogen Peroxide Formation at Nonthermal Plasma–Water Interface. *IEEE Trans. Plasma Sci.* **2016**, *44*, 2084–2091. [[CrossRef](#)]
47. Oehmigen, K.; Hähnel, M.; Brandenburg, R.; Wilke, C.; Weltmann, K.-D.; von Woedtke, T. The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids. *Plasma Process. Polym.* **2010**, *7*, 250–257. [[CrossRef](#)]
48. Zhang, S.; Rousseau, A.; Dufour, T. Promoting lentil germination and stem growth by plasma activated tap water, demineralized water and liquid fertilizer. *RSC Adv.* **2017**, *7*, 31244–31251. [[CrossRef](#)]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Erläuterungen zu den AutorInnen

Erklärung zu den Author Contributions der in der kumulativen Dissertation von Lars ten Bosch angeführten Veröffentlichung:

Insecticidal Effects of Plasma Treated Water

Lars ten Bosch, Robert Köhler, Rinat Ortmann, Stephan Wieneke, Wolfgang Viöl

Journal: International Journal of Environmental Research and Public Health; 2017; 14(12);

doi: 10.3390/ijerph14121460; (Web of Science Impact Factor: 2.468 (2017))

Ideen, Entwürfe, Planungen und Durchführungen zu den in dieser Veröffentlichung präsentierten Untersuchungen liegen bis auf die im Folgenden genannten Ergänzungen in Gänze bei Herrn Lars ten Bosch.

Mitwirkender: Dr. Robert Köhler

Herr Dr. Robert Köhler stand mit Herrn ten Bosch und Herrn Rinat Ortmann bezgl. der Ausführung des Aufbaus der im Rahmen dieses Vorhabens entstandenen Plasmaquellen in regem Austausch.

Mitwirkender: Rinat Ortmann

Herr Rinat Ortmann unterstützte Herrn ten Bosch bei der Durchführung der Versuche sowie bei der Pflanzenpflege und Aufzucht der Versuchstiere.

Mitwirkender: Prof. Dr. Stephan Wieneke

Prof. Dr. Stephan Wieneke unterstützte die Arbeiten durch Diskussionen und ergänzte einzelne Textpassagen.

Mitwirkender: Prof. Dr. Wolfgang Viöl

Prof. Dr. Wolfgang Viöl oblag die generelle Supervision und die wissenschaftliche Leitung des Projekts: „Plasmagestützte Schädlingsbekämpfung im Alltag“ (Projekt-Nr. ZN 2779 und ZN 2872), in dessen Rahmen die präsentierten Untersuchungen stattfanden. Darüber hinaus stellte Prof. Dr. Wolfgang Viöl die zur Durchführung der Versuche notwendigen Mittel und Infrastruktur zur Verfügung und unterstützte die Diskussion der Ergebnisse.

Alle weiteren Arbeiten, wie z.B. die Anfertigung des Texts, der Grafiken und Abbildungen zur Veröffentlichung sowie die Interpretation und Diskussion der Ergebnisse im Kontext der genannten Literatur lagen vollständig bei Herrn Lars ten Bosch. Die dargestellten Ergebnisse wurden von allen Autoren auf Plausibilität geprüft. Der veröffentlichte Text wurde von allen Mitautoren redigiert.

Weitere Untersuchungen zu den Wirkmechanismen

Nachdem die Daten zur Wirksamkeit der PAW *in vitro* nachgewiesen wurden, folgten einige erste Untersuchungen *in situ*. Hierbei wurden Pflanzen der Art *Oleander nerium* von einer Größe von ca. 40 cm, welche jeweils zwei Seitentriebe aufwiesen, auf eine Koloniegröße von 50 Tieren der Art *Planococcus citri* eingestellt. Die Pflanzen (N=3) wurden in Gewächshäusern bei einer konstanten Temperatur von ca. 21 °C, einer täglichen Beleuchtungsdauer von ca. 10 h sowie einer konstanten relativen Luftfeuchtigkeit von 65 % gelagert und nur zu Behandlung und Bonitur ins Labor verbracht.

Die Behandlung der Pflanzen wurde mittels 15 mL PAW durchgeführt. Die Flüssigkeit wurde unter Verwendung eines manuellen Sprühzerstäubers einmal täglich appliziert. Das PAW wurde hierzu auf identische Laborwerte bezüglich der Nitrit-, Nitrat-, Wasserstoffperoxid- sowie pH-Werte eingestellt, wie sie in vorstehender Veröffentlichung dargestellt wurden und täglich frisch erzeugt.

Die Kolonien der behandelten Pflanzen (N=3) wurden mit Kontrollpflanzen (N=3) gleicher Größe verglichen, auf welchen ausschließlich identische Mengen Leitungswasser appliziert wurde. Die Koloniegrößen wurden hierbei in regelmäßigen Abständen überprüft (siehe Abb. 5.11).

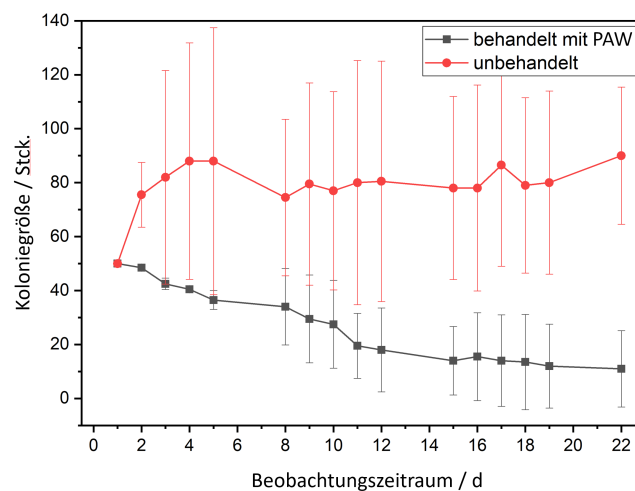


Abbildung 5.11: Entwicklung der Koloniegrößen der *Planococcus citri* auf behandelten (rot, N=3) und unbehandelten Pflanzen (schwarz, N=3) der Art *Oleander nerium*.

Wie in Abb. 5.12 zu sehen und im Mikroskop deutlich sichtbar, zeigt eine Sichtbonitur einen deutlichen Rückgang der kutikularen Wachsschicht der Zitrus-schmierläuse innerhalb der ersten sechs Tage nach der Behandlung. Die durch

Applikation der plasmabehandelten Flüssigkeit fällt der Befallsdruck über einen Beobachtungszeitraum von 22 Tagen kontinuierlich ab. Die Koloniegrößen der unbehandelten Pflanzen steigt nach einem Zeitraum von ca. 4 Tagen auf eine mittlere Größe von ca. 84 Tieren an und stagniert dann. Wie in Abb. 5.12 zu sehen, zeigte sich während des 22tägigen Behandlungszyklus bereits nach kurzer Zeit eine deutliche Reduktion der Wachsschicht der behandelten Individuen. In wie weit ein Austrocknen der Tiere als maßgeblicher Wechselwirkungseffekt verantwortlich ist muss weiter evaluiert werden. Es ist aber davon auszugehen das eine Fehlen der Wachsschicht den Flüssigkeitshaushalt der Tiere nachhaltig beeinflusst. Die verwendeten Pflanzen des *Oleander nerium* zeigten über den gesamten Beobachtungszeitraum keine phytotoxischen Reaktionen. Eine vergleichbare Wirksamkeit

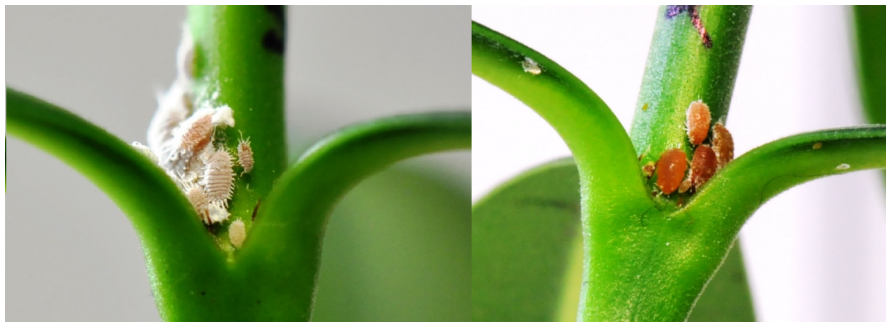


Abbildung 5.12: Deutliche Reduzierung der wollartigen Wachsschicht der *Planococcus citri* innerhalb von 6 Tagen, bei der Verwendung von 15 ml PAW als Pflanzenschutzmittel. Die Versuche wurden auf Pflanzen der Art *Oleander nerium* durchgeführt.

des PAW's konnte ebenfalls bei identischer Applikation auf Individuen der Spezies *Aphis fabae* gezeigt werden.

Diese wurden ebenfalls in einem *in vitro*-Versuch hinsichtlich ihrer Suszeptibilität gegenüber der Anwendung von PAW untersucht. Ebenso wie in der vorangestellten Publikation gezeigt, wurden einzelne Individuen der Spezies *Apis fabae* in 2 µl große Tropfen des PAW verbracht und über einen Zeitraum von 24 h hinsichtlich ihres Zustandes begutachtet. Die Abtötungsraten sind nachfolgend in Abb. 5.13 dargestellt. Im Anschluss wurde ein großflächiger Versuch unter Verwendung von PAW auf ca. 50 Pflanzen unter Gewächshausbedingungen durchgeführt. Hierfür wurden Pflanzen der *Vicia faba* großflächig mit dem Schädling *Apis fabae* infiziert. Im Anschluss wurden mehrere 10 ml PAW pro Pflanze appliziert. Das hierfür benötigte PAW wurde ca. 48 h vor Anwendung hergestellt. Hierbei handelte es sich um eine Menge von ca. 10 l, welche mittels einer Plasmabehandlung (siehe vorstehende Publikation) auf einen Wert von ca. pH 2 eingestellt wurde. Eine

verlässliche Auswertung des Versuchs war aufgrund drastischer phytotoxischer Reaktionen der Bohnenpflanzen nicht möglich. Jedoch zeigte sich innerhalb der ersten Stunden des Versuchs ein flächendeckendes Ausbleiben der Wirkung des PAW auf die Individuen der Spezies *Aphis fabae*. Es wird angenommen, dass das Ausbleiben einer insektiziden Wirkung auf die großen Zeiträume zurückzuführen ist, welche zwischen Erzeugung und Einsatz der Flüssigkeiten lagen. Hierdurch kann der Anteil reaktiver Spezies in Lösung (z.B. O_3_{aq}) deutlich zurück gegangen sein [22, 193–195].

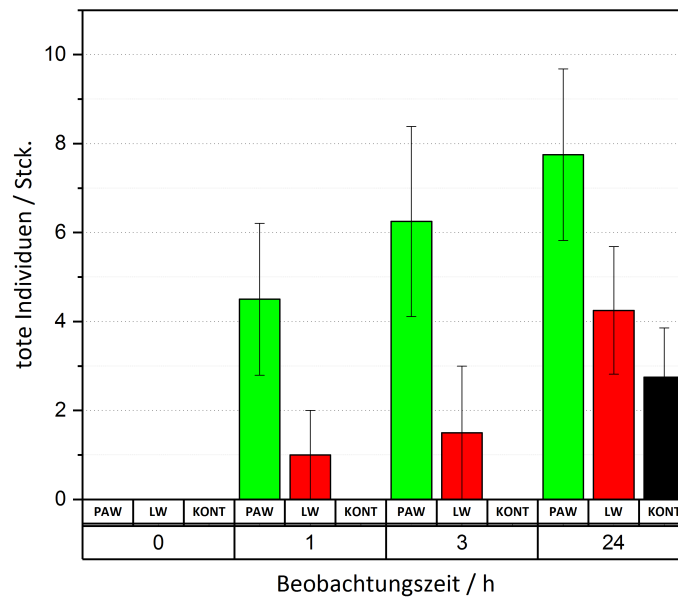


Abbildung 5.13: Abtötungsraten bei Anwendung von PAW (pH 2) auf Individuen der *Aphis fabae* innerhalb von 24 h. Gezeigt werden Abtötungsraten in den Gruppen PAW (grün), LW (rot) und einer Kontrollgruppe (schwarz). Hierbei stehen PAW für das plasmabehandelte Wasser, LW für unbehandeltes Leitungswasser. Die Gruppen bestanden hierbei aus je 10 Tieren, wobei die Kontrollgruppe ohne Zugabe von Flüssigkeit in einer Petrischale gehalten wurde.

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass eine weitere Evaluierung der chemischen Veränderung der erzeugten Flüssigkeiten bei bzw. nach längeren Lagerungszeiträumen notwendig ist. Um eine maximale insektizide Wirksamkeit zu erzielen ist nach aktuellen Erkenntnissen eine direkte Erzeugung plasmabehandelter Flüssigkeiten *in situ* einer Erzeugung und Verwendung im *Batch*-Verfahren vorzuziehen.

5.4 Plasmabasierter Abbau *fusarium*-, *aspergillus*- und *alternariaspezifischer* Mykotoxine

In jüngster Vergangenheit konnte wiederholt die Eignung unterschiedlicher Plasmen zum Mykotoxinabbau gezeigt werden [62, 63, 65–69, 158, 159]. Einige dieser Studien zeigen den Abbau von Reinstoffen. Andere konzentrieren sich auf den Abbau von Mykotoxinen, welche, zum teil künstlich, auf natürliche Substrate aufgebracht wurden. Die so verwendeten, natürlichen Substrate werden bei dieser Methode häufig nur oberflächlich mit dem zu untersuchenden Toxin benetzt. Ist das Mykotoxin jedoch natürlich in einer Probe enthalten besteht die Möglichkeit, dass auch das umgebende Material mit den in der Entladung auftretenden, reaktiven Spezies wechselwirkt und die Toxine (teilweise) abschirmt. Die aktiven Spezies werden also bereits abgefangen und reagieren sich an Strukturmolekülen des umgebenden Probenmaterials ab, wodurch nur wenige reaktive Spezies für eine Reaktion mit dem Toxin zur Verfügung stehen. Dieses natürliche Abbauverhalten wird bei einer nachträglichen und häufig oberflächlichen Präparation nur bedingt reproduziert. Die bei diesem artifiziellen Präparationsetting auftretenden Abbauraten können also deutlich größer sein als bei einer natürlichen Verunreinigung der Probe.

Darüber hinaus existieren weitere Variabilitäten zwischen den bisher veröffentlichten Studien [62, 63, 65, 66, 158]. So wurden z.B. unterschiedliche Leistungen, Arbeitsgase und Entladungskonzepte verwendet, welche ohne eine Angabe der in der jeweiligen Entladung auftretenden Temperaturen (wie z.B. T_{rot}) keine hinreichende Vergleichbarkeit erlauben. Somit ist auch eine Vergleichbarkeit der Quellen bezüglich ihrer Effektivität sowie eine Abschätzung bezüglich verantwortlicher Wechselwirkungsmechanismen interessant aber effektiv nur bedingt möglich. Auch die Angabe der eingekoppelten Leistungen ist ohne eine begleitende Angabe der auftretenden Plasmatemperaturen nur bedingt aussagekräftig.

Die hier präsentierten Studien hatten zum Ziel die Abhängigkeit der Abbauraten von der Molekülstruktur sowie der umgebenden, natürlichen Matrix zu evaluieren. Um zum Verständnis der Zusammenhänge bezüglich der Substratabhängigkeit des Abbauprozesses eines plasmainduzierten Mykotoxinabbaus beizutragen wurde ein Modellansatz verwendet, welcher es erlaubt die zu untersuchenden Toxine in einer natürlichen Matrix zu belassen. Das so produzierte Extrakt enthält neben den extrahierten Toxinen einen hohen Anteil organischer Rückstände (Schwebstoffe in

Form von Zellen, Lipiden etc.). Die Pilzsporen unterschiedlicher *Fusarium*-Stämme wurden in Anlehnung an *Bai* [196] mit einer Modifikation des Verfahrens nach *Becker et al.* [197] produziert. Die Sporen wurden anschließend in sterilen Leitungswasser dispergiert und bei -60°C gelagert. Die Reiskulturen wurden nach *Nutz et al.* [198] präpariert. Alle Toxine wurden anschließend aus jeweils 5 g Reiskulturen unter Verwendung von 40 ml Azetonitril über einen Zeitraum von ca. 10 h extrahiert. Die Fumonisine wurden identisch, jedoch unter Verwendung von Methanol extrahiert. Nach Konzentrationsbestimmung der Toxine mittels HPLC-MS (High Power Liquid Coloum - Mass Spectroscopy) wurden die Überstände im Vakuum getrocknet und auf eine Konzentration von $10\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ in Methanol eingestellt ³⁵. Die verwendete Methode der Extraktion aus Reiskulturen wird üblicherweise zur Produktion von u.A. *fusarium*-, *aspergillus*- und *alternariaspezifischen* Toxinen verwendet. Eine dieser Extraktion i.d.R. nachgeschaltete Filterung und Aufreinigung zur Reinstoffgewinnung erfolgte nicht, um das Matrixmaterial in Lösung zu behalten.

Vor der Durchführung der hier vorliegenden Studie war der Einfluss der Molekülstruktur auf die plasmainduzierten Abbauraten von Toxinen sowie der dämpfende Einfluss einer natürlichen Probenmatrix auf die Abbauraten nicht bekannt. Die beschriebenen Untersuchungsreihen wurden im nachfolgenden Fachartikel publiziert.

Quelle Originalveröffentlichung:

Lars ten Bosch, Katharina Pfohl, Georg Avramidis, Stephan Wieneke, Wolfgang Viöl, Petr Karlovsky

Plasma-Based Degradation of Mycotoxins produced by Fusarium, Aspergillus and Alternaria Species

Journal: *Toxins*; 2017; 9(3); DOI: 10.3390/toxins9030097
(Web of Science Impact Factor: 3.895 (2017))

³⁵Für Anzucht und Aufbereitung der Proben sowie der anschließenden HPLC-MS-Analyse der behandelten Proben wird Dr. Katharina Pfohl gedankt.

Plasma-Based Degradation of Mycotoxins Produced by *Fusarium*, *Aspergillus* and *Alternaria* Species

Lars ten Bosch ^{1,*}, Katharina Pfohl ^{2,*}, Georg Avramidis ^{1,*}, Stephan Wieneke ¹, Wolfgang Viöl ^{1,3} and Petr Karlovsky ²

¹ University of Applied Sciences and Arts, Faculty N, Von-Ossietzky-Strasse 99/100, 37085 Göttingen, Germany; stephan.wieneke@hawk-hhg.de (S.W.); wolfgang.vioel@hawk-hhg.de (W.V.)

² Molecular Phytopathology and Mycotoxin Research, Georg-August-University Göttingen, Grisebachstrasse 6, 37077 Göttingen, Germany; pkarlov@gwdg.de

³ Fraunhofer IST Application Centre, Von-Ossietzky-Strasse 100, 37085 Göttingen, Germany

* Correspondence: lars.bosch@hawk-hhg.de (L.t.B.); kpfohl@gwdg.de (K.P.); georg.avramidis@hawk-hhg.de (G.A.); Tel.: +49-551-3705-361 (L.t.B.); +49-551-39-13230 (K.P.); +49-551-3705-293 (G.A.)

Academic Editor: Ting Zhou

Received: 13 January 2017; Accepted: 7 March 2017; Published: 10 March 2017

Abstract: The efficacy of cold atmospheric pressure plasma (CAPP) with ambient air as working gas for the degradation of selected mycotoxins was studied. Deoxynivalenol, zearalenone, enniatins, fumonisin B1, and T2 toxin produced by *Fusarium* spp., sterigmatocystin produced by *Aspergillus* spp. and AAL toxin produced by *Alternaria alternata* were used. The kinetics of the decay of mycotoxins exposed to plasma discharge was monitored. All pure mycotoxins exposed to CAPP were degraded almost completely within 60 s. Degradation rates varied with mycotoxin structure: fumonisin B1 and structurally related AAL toxin were degraded most rapidly while sterigmatocystin exhibited the highest resistance to degradation. As compared to pure compounds, the degradation rates of mycotoxins embedded in extracts of fungal cultures on rice were reduced to a varying extent. Our results show that CAPP efficiently degrades pure mycotoxins, the degradation rates vary with mycotoxin structure, and the presence of matrix slows down yet does not prevent the degradation. CAPP appears promising for the decontamination of food commodities with mycotoxins confined to or enriched on surfaces such as cereal grains.

Keywords: DBD; atmospheric pressure; low temperature plasma; mycotoxins; degradation

1. Introduction

Phytopathogenic fungi infect crops in the field (pre-harvest spoilage) while spoilage fungi colonize harvested commodities during storage (post-harvest spoilage). Besides the reduction of yield and quality, infection with fungal pathogens often leads to contamination with mycotoxins [1,2]. These toxic fungal metabolites have the potential to harm the health of consumers and livestock. Reduction of mycotoxin content in food and feedstuff is therefore an important goal of food and feed safety improvement.

Prevention of fungal contamination is the primary means of agricultural and food industry when it comes to compliance with maximum limits for mycotoxin content. In current production systems, however, even the best agricultural and manufacturing practices cannot fully prevent mycotoxin contamination. Degradation of toxic metabolites may be used to decontaminate food and feed products. Since most mycotoxins exhibit a high chemical stability, development of decontamination methods compatible with food quality standards is a challenging task. Over the last decades chemical, biological and physical strategies for the degradation of mycotoxins and the effect of food processing technologies

on mycotoxin content were investigated extensively [3–5]. Among physical treatments mainly heating, irradiation and washing were studied. Mineral and organic mycotoxin binders are established since decades in animal production. More recently chemical and biological decontamination methods were studied. Among chemical methods, successful application of acids, bases, oxidizing agents, chlorinating agents, formaldehyde and ammoniation was described, especially for the decontamination of aflatoxin- and ochratoxin A-contaminated feeds. Although biological and enzymatic strategies have been developed since 1960's [4] physical techniques still offer the most efficient removal of mycotoxins from food and feed [5].

Technical plasma is a novel physical method with a great potential as a post-harvest treatment method for mycotoxin mitigation. Plasma has been successfully used for sterilization and in plasma medicine [6–11]. Recent application of cold atmospheric pressure plasma (CAPP) in breaking seed dormancy and destruction of plant pathogens showed that the technology is suitable for sensitive biological materials [12–15]. Plasma of different types were used in studies of the inhibition of mycotoxin production and mycotoxin degradation. Ouf et al. [16] demonstrated inhibition of the synthesis of fumonisin B2 and ochratoxin A by *A. niger* after treatment with an atmospheric pressure argon plasma jet. Park et al. [17] successfully degraded aflatoxin B1 (AFB1), deoxynivalenol (DON) and nivalenol (NIV) within 5 s using a microwave-induced argon jet at atmospheric pressure.

Physical and chemical treatment of plant products bear a risk of reducing nutritional value and negatively affecting the palatability and sensory quality of the product. Long treatment duration, required by some methods for satisfactory decontamination of large quantities of goods, may increase the risk of these side effects. The effect of physical and chemical decontamination on nutritional value and quality of food commodities has rarely been systematically investigated. Because the energy of free electrons and excited ions and molecular species in CAPP exceeds the dissociation energy of a C-C bond, organic molecules in the discharge are subjected to unspecific degradation. This feature of CAPP was used to degrade chemically stable pollutants in gaseous phase (e.g., [18]). Low penetration depth of CAPP protects nutrients in bulk material from degradation, limiting degradation to a thin surface layer [19]. Kříž et al. [20,21] showed that the content of proteins and fibers as well as residual dry matter, nitrogen-free extract, fat and ash in intact barley grains were not significantly affected by treatment with CAPP while the content of selected mycotoxins was reduced by 20%–70%. We hypothesize that the confinement of mycotoxin contamination to the surface of grains accounted for the selectivity of the degradation in this study.

In the presented study, a dielectric barrier discharge (DBD) operated with ambient air at atmospheric pressure was utilized for the degradation of mycotoxins. Preliminary experiments using a similar setup and comparable dissipated discharge power applied on pea seeds (*Pisum sativum*) revealed no decline of seed germination rate, thus indicating negligible thermal effect due to plasma treatment [22]. The aim of this work was to test the effectiveness of cold atmospheric pressure air plasma based on a dielectric barrier discharge for the degradation of selected mycotoxins important in food and feed safety.

2. Results

2.1. Treatment of Cover Glasses

Mycotoxin solutions were applied on untreated and 5 s pre-treated cover glasses in order to find out whether the activated surface of plasma-pretreated cover glasses (Section 4.3) might chemically affect mycotoxins. Mycotoxin content was determined as described in Section 4.4. As shown in Figure 1, pre-treatment of cover glasses with air plasma did not significantly affect mycotoxins on glass surface.

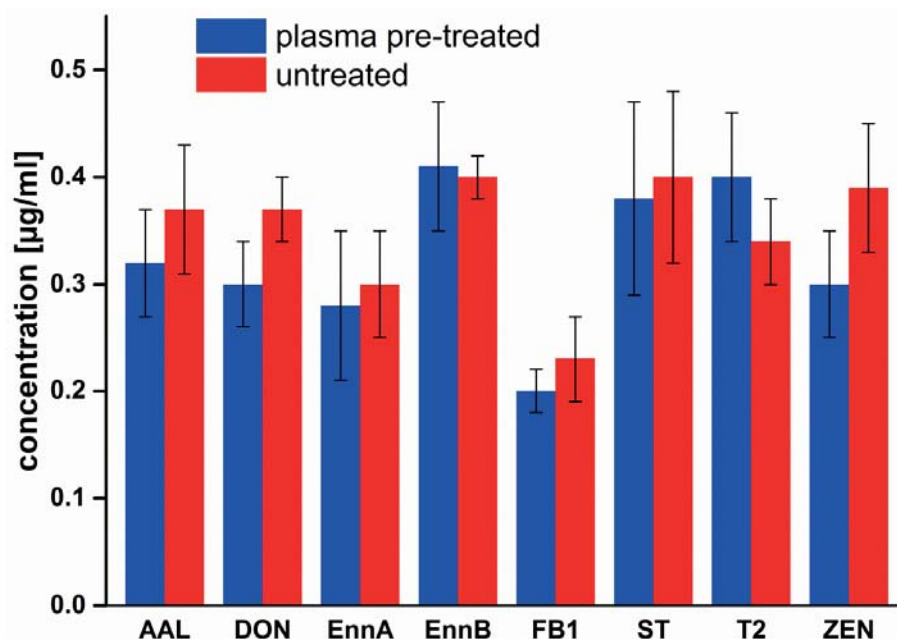


Figure 1. Effect of cover glass pretreatment on mycotoxins. Round cover-glasses were pre-treated with air-plasma for 5 s or not treated (controls). The further sample preparation was executed as described in Section 4.3. Significance of differences between treatments and control was tested by *t*-test at $p = 0.05$ with correction for multiple testing, according to Bonferroni. No significant difference was found.

2.2. Treatment of Pure Mycotoxins and Fungal Extracts

AAL toxin, FB1, DON, ZEN, EnnA, EnnB, T2-toxin and ST as pure compounds covering the surface of cover glasses were subjected to air-plasma for 5 s, 10 s, 20 s, 30 s, and 60 s. HPLC-MS/MS analysis of residues on the glass surface revealed that the plasma treatment led to time-dependent degradation of all mycotoxins (Figure 2a,b). Searching for degradation products by HPLC-MS in a full-scan mode failed to detect any distinct MS signal.

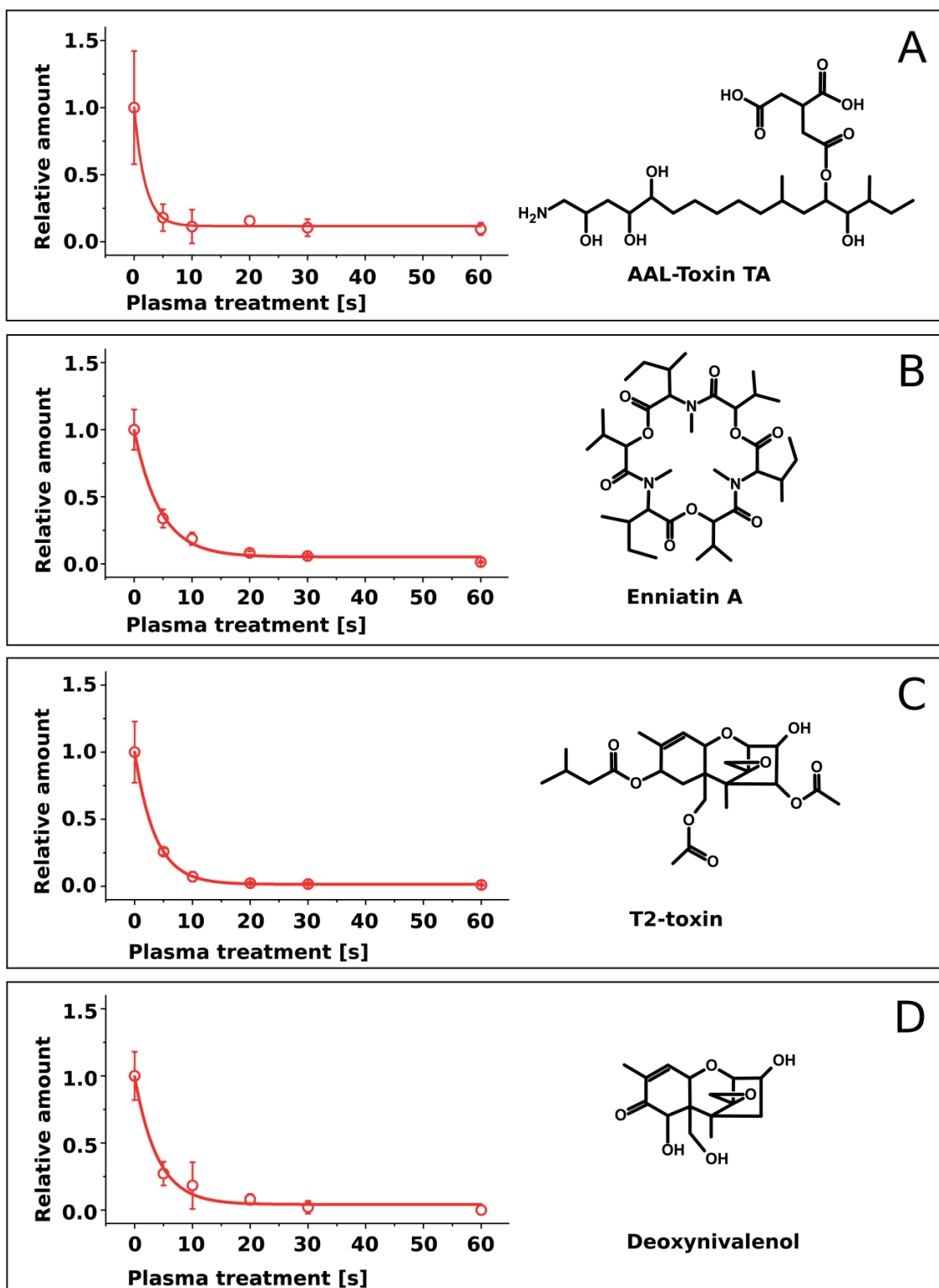
The degradation kinetics seemingly followed an exponential decay. Since distinct differences among the toxins were apparent in their degradation rates, the measured data sets were fitted by an exponential function (Figure 2a,b).

$$C(t) = y_0 + C_0 \cdot e^{-t/\tau} \quad (1)$$

$C(t)$ is the concentration at time t , C_0 is the initial concentration, y_0 represents the threshold and τ represents the half-life. Half-life values calculated for all toxins by fitting Equation (1) to the data sets (Figure 2) are shown in Table 1.

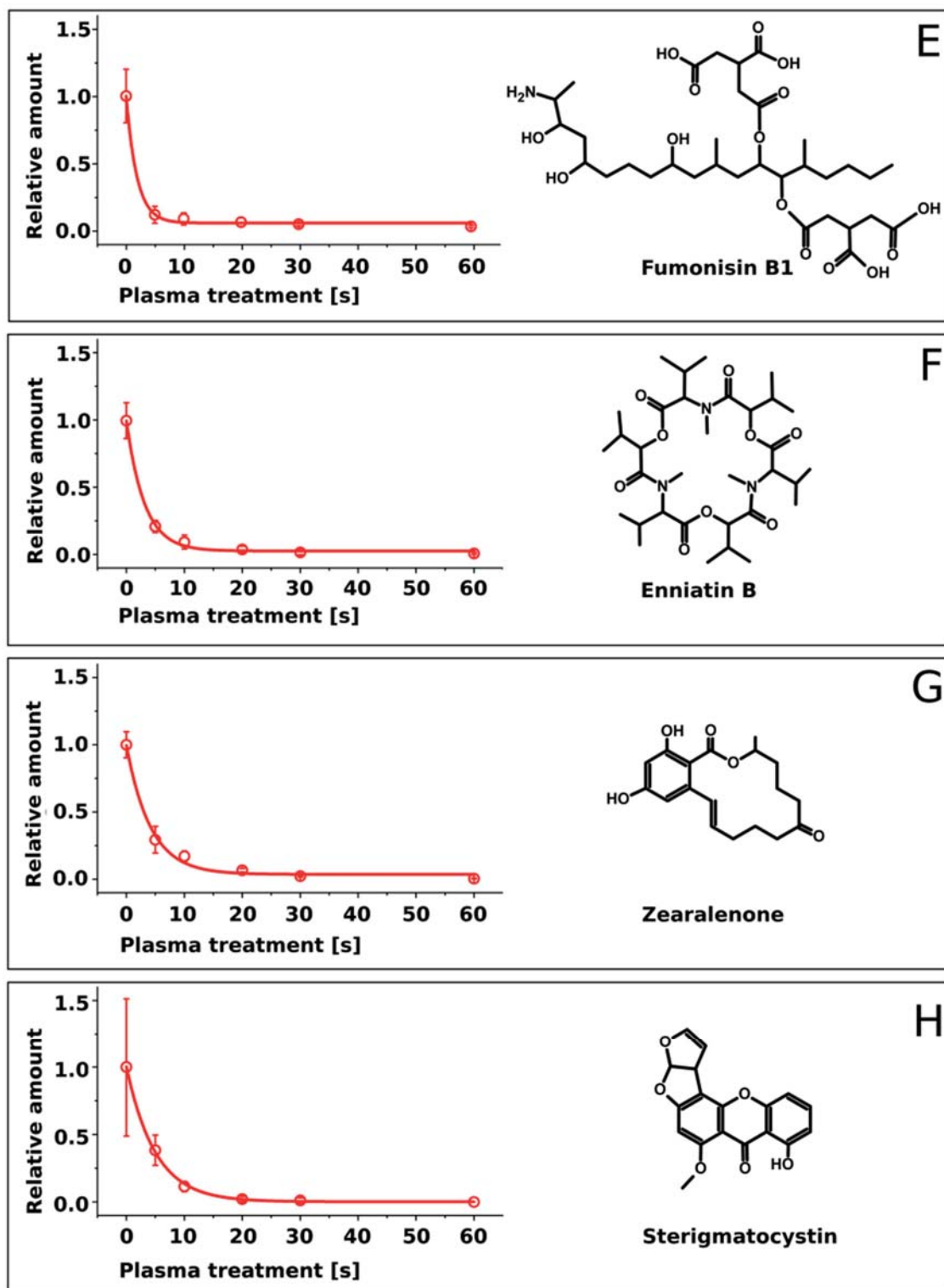
Table 1. Half-life at $\approx 4 \text{ W/cm}^2$, molecular mass and chemical formula of the mycotoxins.

Mycotoxin	Half-Life τ [s]	Molecular Mass [Da]
Sterigmatocystin	5.0 ± 0.4	324.3
Enniatin A	4.5 ± 0.5	681.9
Zearalenone	4.2 ± 0.5	318.4
Deoxynivalenol	4.0 ± 0.7	296.3
T2-toxin	3.6 ± 0.1	466.5
Enniatin B	3.1 ± 0.2	639.8
AAL-toxin	1.9 ± 0.4	521.6
Fumonisin B1	1.9 ± 0.3	721.8



(a)

Figure 2. *Cont.*



(b)

Figure 2. (a). Time-dependent decay of four pure mycotoxins exposed to air plasma ($N = 5$). (A) AAI-Toxin TA, (B) Enniatin A, (C) T2-toxin, (D) Deoxynivalenol; (b). Time-dependent decay of four pure mycotoxins exposed to air plasma ($N = 5$). (E) Fumonisin B1, (F) Enniatin B, (G) Zearalenone, (H) Sterigmatocystin.

Four mycotoxins (FB1, EnnB, ST and ZEN) were selected to investigate the effect of matrix on mycotoxin degradation by plasma. Extracts of rice cultures of fungal strains producing these mycotoxins (*Fusarium verticillioides*, *Fusarium avenaceum*, *Aspergillus nidulans* and *Fusarium graminearum*), containing approx. 100 µg/mL of each toxin, were exposed to air plasma under the same conditions as pure compounds. The degradation rates were reduced as compared to pure compounds for all four mycotoxins (Figure 3). Particularly strong reduction of degradation rates was observed for FB1 and EnnB; nearly half of these toxins remained intact at the end of the treatment. Moreover, the course of the degradation of FB1 and EnnB was linear, contrasting to exponential decay of pure compounds. Degradation rates of ZEN and ST were reduced to a lesser extent and the progress of degradation of these toxins in matrix followed exponential decay similarly as the degradation of pure compounds (Figure 3).

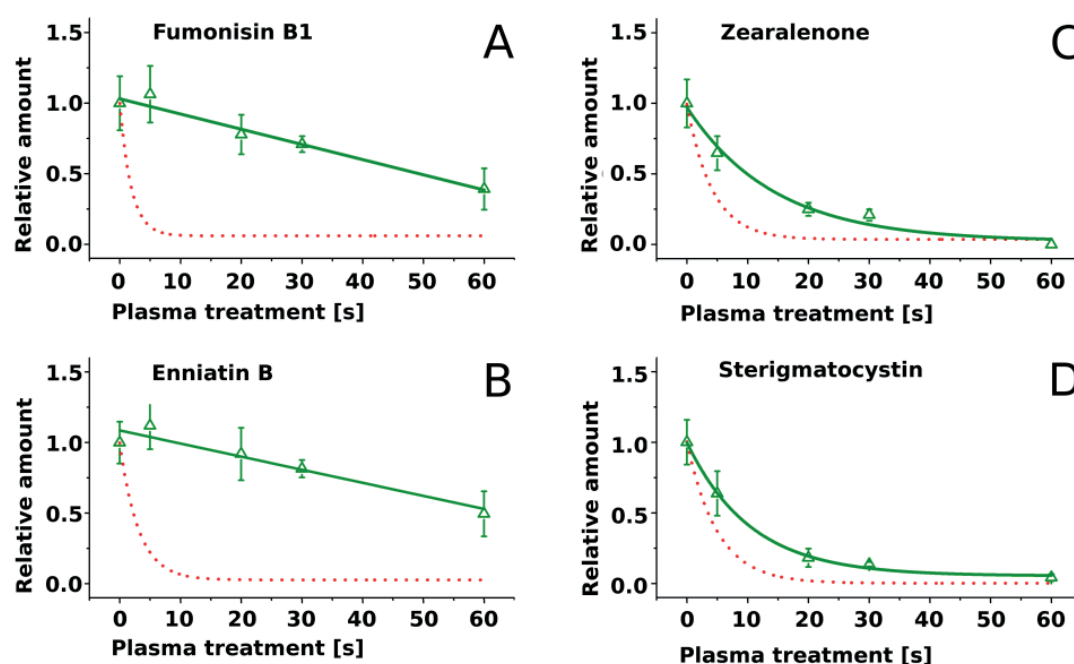


Figure 3. Time-dependent decay of mycotoxins embedded in rice extract (green line) exposed to air plasma (N = 5). (A) Fumonisin B1; (B) Enniatin B; (C) Zearalenone; (D) Sterigmatocystin. The red dotted line displays the decay slopes of the respective pure mycotoxin standards as shown in Figure 2b.

3. Discussion

All investigated mycotoxins, when present as pure compounds, showed a distinct decay within a few seconds of plasma treatment duration and were reduced by approx. 2 log-ranges within 30 s as shown in Figure 2a,b. It is assumed that the energy dissipated in the discharge gap induces a combination of different degrading mechanisms acting on the toxins such as chemical reactions with reactive species generated in the plasma volume such as O, O₃, OH, and NO_x [23,24] and/or decomposition after collision with electrons and ions [25,26] leading to cleavage of molecular bonds. Further reactions with plasma species can result in fragmentation and generation of volatile compounds. Decomposition of organic compounds into volatile products such as CO, CO₂, and H₂O during exposition of various polymer materials to oxygen-containing plasmas is a known phenomenon that was reported by several authors (e.g., [27–29]).

No stable residues of toxin degradation could be detected with HPLC-MS. Rapid degradation of toxin fragments into volatile products can be expected in analogy with the results of the study of Doraj and Kushner [27] in which degradation of polypropylene was elucidated. We assume that mycotoxin fragments were rapidly converted into volatile compounds which were immediately

removed by the gas stream in the discharge gap. Therefore, future work will be dedicated to mass spectrometric investigation of the plasma effluent.

Our results (Figure 2a,b) are in accordance with the degradation of aflatoxin B1, DON, and nivalenol by Park et al. [17] who used a microwave argon plasma jet as well as by Ouf et al. [16] who demonstrated the reduction of fumonisin B2 and ochratoxin A by an atmospheric pressure argon kHz-operated jet. It should be kept in mind that sample temperature measured after the treatment by different approaches differed significantly: 35 °C were estimated after 9 min of treatment by Ouf et al. [16] and 105 °C after 5 s of treatment by Park et al. [17,30]. Elevated temperatures may cause thermal degradation. Since gas temperature and substrate temperature in this study did not exceed 60 °C, no thermal degradation of mycotoxin is expected.

Decay curves of individual toxins showed distinctly different degradation kinetics (Figure 2a,b). These differences were quantified by exponential fitting (Table 1). FB1 and AAL-toxin were degraded at the highest rate ($\tau = 1.9 \pm 0.3$) and ST at the lowest rate ($\tau = 5.0 \pm 0.4$).

The decay rates did not correlate with molecular mass. For example, EnnA with a molecular mass of 681.9 Da showed a similar decay rate as ST with a mass of 324.3 Da. The degradation rate might however be affected by the chemical structure. FB1 and structurally related AAL-toxin with long aliphatic chains were degraded rapidly, while ST with a compact structure of condensed aromatic rings had the highest half life. Most other mycotoxins with intermediate decay rates possessed mixed structures of condensed rings and aliphatic chains.

A relationship between the degradation rate of chemical compounds and their molecular structure was described by Gröning et al. [31] investigating plasma-based decay of polymers. These researchers suggested a buffering effect of aromatic structures on the degradation by low-pressure air-plasma. Klarhöfer et al. [32] reported higher resistance of lignin (which contains aromatic structures) exposed to an air DBD compared to cellulose and ascribed this observations to a similar mechanism. Aromatic structures occurring in mycotoxins might therefore slow down plasma-induced degradation. Future investigations will focus on degradation pathways, especially considering wide-spread toxins lacking aromatic rings. It is desirable to verify the postulated structural effects on degradation and identify reactive species in the plasma accountable for the degradation. Degradation of chemical constituents of solid materials by cold plasma is confined to thin surface layers [19]. Mycotoxins produced by *Fusarium* species in small-grain cereals are often enriched in the outer layers of grains [33,34]; this circumstance may facilitate selective degradation of mycotoxins in grains by cold plasma with a small loss of nutrients.

Mycotoxins imbedded in extracts of fungal cultures were degraded with lower rates than pure compounds. Presumably, components of the extracts scavenged reactive molecular species in the plasma, shielding mycotoxins from degradation. Activated components of the extracts are expected to rapidly react with other compounds including mycotoxins. Because the presence of matrix significantly reduced the degradation rates of mycotoxins, secondary chemical reactions apparently did not compensate for the loss of reactive molecular species by scavenging. We hypothesize that the effect of matrix on the degradation of other mycotoxins by plasma will be similar. In spite of the protective effects of culture extracts, significant decay of mycotoxins in culture matrix occurred, suggesting that plasma-based methods are promising for mycotoxin degradation in thin surface layers even in the presence of complex matrices.

4. Experimental Setup and Materials

4.1. Mycotoxin Standards

Pure mycotoxin standards of AAL toxin (TA1 + TA2), enniatin A (Enn A), enniatin B (Enn B), fumonisin B1 (FB1), sterigmatocystin (ST), deoxynivalenol, T2-toxin and zearalenone (ZEN) were purchased from Sigma Aldrich (Munich, Germany). Stock solutions were prepared in LC-MS grade methanol (Th. Geyer GmbH, Renningen, Germany).

4.2. Fungal Strains, Rice Cultures and Mycotoxin-Containing Fungal Extracts

Fusarium verticillioides VP2 [35] was kindly provided by Francesca Cardinale (University of Turin, Turin, Italy). *F. avenaceum* DSM 21724 was purchased from Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig, Germany). *F. graminearum* IFA 66 was kindly provided by Marc Lemmens (Institute of Biotechnology in Plant Production, Tulln, Austria) via Thomas Miedaner (University of Hohenheim, Stuttgart, Germany). *F. graminearum* Fg71 was kindly provided by Thomas Miedaner. *Aspergillus nidulans* RDIT2.3 was kindly provided by Marko Rohlf (University of Göttingen, Göttingen, Germany).

Fungal spores of *Fusarium* strains were produced according to Bai [36] with modification (Becker et al. [37]). The spores were suspended in sterile tap water and stored at -60°C . Rice cultures were prepared as described (Nutz et al. [38]). All mycotoxins except fumonisins were extracted from 5 g rice cultures with 40 mL acetonitrile overnight with shaking, while fumonisins were extracted with methanol. An aliquot of 1 mL was dried, redissolved in 1 mL of methanol/water (1:1) and the concentration of mycotoxins was determined by HPLC-MS (see below). Remaining supernatants were dried in vacuum and the residues were dissolved and adjusted to a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ of ST (*A. nidulans* RDIT2.3), FB1 (*Fusarium verticillioides* VP2), Enn B (*F. avenaceum* DSM 21724) and ZEN (*F. graminearum* Fg71 and IFA 66).

4.3. Sample Preparation

Round cover-glasses (thickness 100 μm , diameter 16 mm) were placed onto microscopy slides and pre-treated with air-plasma for 5 s to facilitate an even spread of the toxin solution on the surface by increased surface tension (see e.g., Gerhard et al. [39]). Subsequently, 1.5 μL mycotoxin solution (100 $\mu\text{g/mL}$ in methanol) were centrally applied onto the cover glass; the solution spread over the entire glass area spontaneously. After solvent evaporation at room temperature, the specimen underwent a plasma treatment at constant input power and varying treatment durations (0 s, 5 s, 10 s, 20 s, 30 s and 60 s). Then, the cover glasses were immersed in 0.5 mL methanol for at least 24 h to dissolve residual mycotoxins for analysis. 5 replicates per mycotoxin and treatment were used.

4.4. Mycotoxin Analyses

High performance liquid chromatography was performed as described (Ratzinger et al. [40]) using C18 column (Kinetex, 50.0 mm \times 2.1 mm, particle size 2.6 μm ; Phenomenex, Aschaffenburg, Germany); for the quantification of enniatins, 10 μM sodium acetate were added to the mobile phase. The analytes were ionized by electrospray and analyzed either by tandem mass spectrometry for quantification of mycotoxins or in a full scan mode while searching for degradation products using an ion trap detector 500 MS (Varian, Darmstadt, Germany). For the identification of mycotoxins retention time, m/z of molecular ions and fragmentation spectra were used. DON and ZEN were detected in a negative mode while all other mycotoxins were analyzed in positive ionization mode. The m/z values for molecular ions and mass transitions used were 522 > 328 for AAL-toxin, 722 > 686 for FB1, 662 > 549 for Enn B, 704 for Enn A, 325 > 310 for ST, 489 > 387 for T2-toxin, 355 > 295 for DON and 317 > 175 and 317 > 273 for ZEN. Quantification was carried out based on a linear calibration curve constructed with pure external standards. The estimated limits of quantification were 3 ng/mL for FB1, 5 ng/mL for Enn A/B, ST, AAL-toxin and T2-toxin, 10 ng/mL for DON 1 ng/mL and for ZEN. For all mycotoxins analyzed in positive ionization mode full-scan search for degradation products was carried out as described by Ratzinger et al. [40] followed by pairwise comparison of signal intensities after peak alignment and normalization [41].

4.5. Plasma Device

For plasma treatment, samples were positioned on a glass-insulated (float glass; thickness 4 mm) ground electrode (aluminum) so that the discharge gap between the samples and the upper electrode

was 2 mm (Figure 4a). The upper electrode ($145 \times 85 \times 28$ mm, filling: bronze powder, dielectric: Al_2O_3 , thickness of dielectric 3 mm) was connected to an alternating high-voltage (≈ 19 kV peak) pulse generator producing bipolar high-voltage pulses of a duration of approximately $1.9 \mu\text{s}$ and a repetition frequency of 17 kHz.

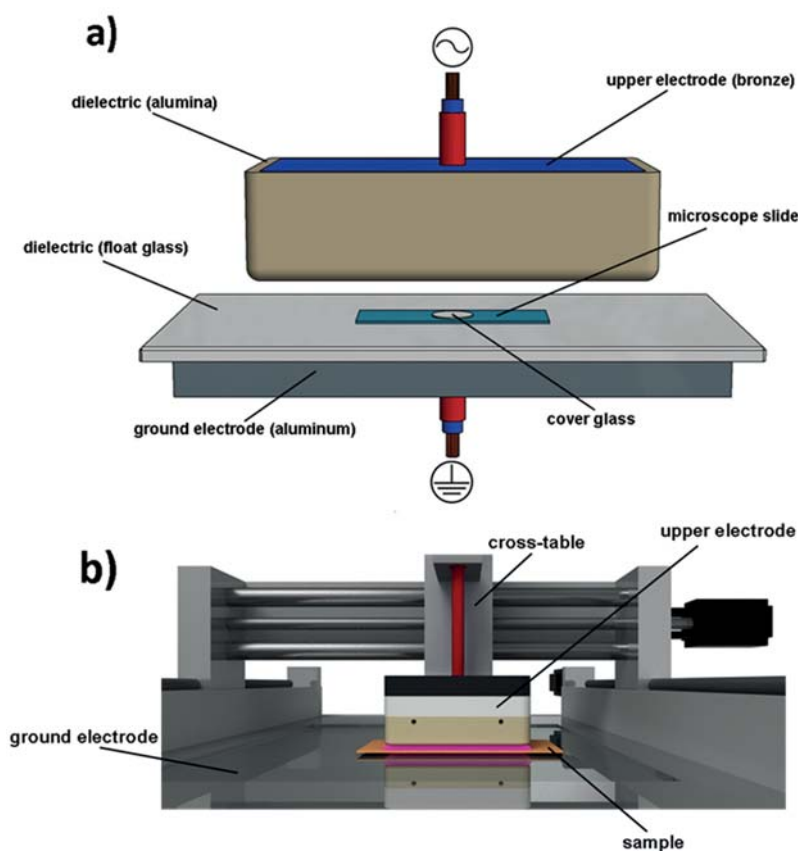


Figure 4. Principle of the electrode configuration (a) and scheme of experimental setup (b).

Figure 4b depicts the plasma-setup and Table 2 the operational parameters. The upper high voltage electrode is attached to a cross-table and can be moved along 3 axes. One transition over the sample surface results in 5 s of plasma exposition at the chosen movement speed. The treatment of the samples was carried out by several consecutive sample transits by the upper electrode. During treatment compressed air flow was applied in order to cool the system and to homogenize the discharge. The gas temperature, estimation via optical emission spectroscopy (high resolution spectra applying an Echelle spectrograph, see e.g., [42,43]), and substrate temperatures, estimation via thermographic analysis (Fluke TiS Thermal Imager, Fluke Corporation, Everett, WA, USA), did not exceed 330 K or 60 °C after 60 s of treatment.

Table 2. Input parameters for experimental setup.

Input Parameter	Value
power density	$\approx 4 \text{ W/cm}^2$
discharge gap	2 mm
air flow	130 sl/min
appl. voltage	$\approx 38 \text{ kV (p-p)}$
waveform	pulsed sine
gas temperature	$T_{\text{rot}} \approx 330 \text{ K}$

4.6. Measurement of Injected Power

The total energy converted in the gas discharge is an important parameter to characterize dielectric barrier discharges and was determined following the established cyclogram/Lissajous method [44]. The voltage/charge Lissajous figure (Q-U-plot) of the transferred charge and the applied voltage was used to calculate the energy dissipated into the system. The electrical parameters were measured using a high voltage probe (3 pF, 100 M Ω , Tektronix P6015A, Tektronix Inc., Beaverton, OR, USA) and a parallel circuit consisting of a capacitor (200 nF) and a resistor (1 k Ω). This parallel circuit was used for the charge measurement using a Yokokawa DL1740EL Dual 500 MHz oscilloscope (Yokogawa Electric Corp., Musashino, Tokyo, Japan) for digitalization. The voltage applied to the upper electrode was measured directly, whereas the transferred charge was determined by the measurement of the voltage drop on the capacitance ($2 \times$ WIMA FKP1, 100 nF). The calculated power injected to the system was approx. 500 W for all sample treatments. Considering the electrode geometry, a power density of $\approx 4/\text{cm}^2$ was calculated as depicted in Table 2.

Acknowledgments: This work was funded by *Niedersächsisches Vorab: Volkswagen Stiftung* (ZN2779). The authors would like to thank all colleagues involved.

Author Contributions: Georg Avramidis, Petr Karlovsky, Katharina Pfohl and Lars ten Bosch conceived and designed the experiments; Georg Avramidis and Lars ten Bosch performed the experiments; Georg Avramidis, Petr Karlovsky, Katharina Pfohl and Lars ten Bosch analyzed the data; Stephan Wieneke, Wolfgang Viöl and Petr Karlovsky contributed reagents/materials/analysis tools; Georg Avramidis, Petr Karlovsky, Katharina Pfohl and Lars ten Bosch wrote the paper.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Pestka, J.J. Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Arch. Toxicol.* **2010**, *84*, 663–679. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Placinta, C.M.; D’Mello, J.P.F.; Macdonald, A.M.C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* **1999**, *78*, 21–37. [[CrossRef](#)]
3. He, J.; Zhou, T.; Young, J.C.; Boland, G.J.; Scott, P.M. Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: A review. *Trends Food Sci. Technol.* **2010**, *21*, 67–76. [[CrossRef](#)]
4. Karlovsky, P. Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. *Nat. Toxins* **1999**, *7*, 1–23. [[CrossRef](#)]
5. Karlovsky, P.; Suman, M.; Berthiller, F.; de Meester, J.; Eisenbrand, G.; Perrin, I.; Oswald, I.P.; Speijers, G.; Chiodini, A.; Recker, T.; et al. Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin Res.* **2016**, *32*, 179–205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Helmke, A.; Hoffmeister, D.; Berge, F.; Emmert, S.; Laspe, P.; Mertens, N.; Viöl, W.; Weltmann, K.-D. Physical and microbiological characterisation of *Staphylococcus epidermidis* inactivation by dielectric barrier discharge plasma. *Plasma Process. Polym.* **2011**, *8*, 278–286. [[CrossRef](#)]
7. Ehlbeck, J.; Schnabel, U.; Polak, M.; Winter, J.; von Woedtke, T.; Brandenburg, R.; von dem Hagen, T.; Weltmann, K.-D. Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2011**, *44*. [[CrossRef](#)]
8. Fridman, G.; Friedman, G.; Gutsol, A.; Shekhter, A.B.; Vasilets, V.N.; Fridman, A. Applied Plasma Medicine. *Plasma Process. Polym.* **2008**, *5*, 503–533. [[CrossRef](#)]
9. Kong, M.G.; Kroesen, G.; Morfill, G.; Nosenko, T.; Shimizu, T.; van Dijk, J.; Zimmermann, J.L. Plasma medicine: An introductory review. *New J. Phys.* **2009**, *11*. [[CrossRef](#)]
10. Park, G.Y.; Park, S.J.; Choi, M.Y.; Koo, I.G.; Byun, J.H.; Hong, J.W.; Sim, J.Y.; Collins, G.J.; Lee, J.K. Atmospheric-pressure plasma sources for biomedical applications. *Plasma Sour. Sci. Technol.* **2012**, *21*, 43001. [[CrossRef](#)]
11. Halfmann, H.; Bibinov, N.; Wunderlich, J.; Awakowicz, P. A double inductively coupled plasma for sterilization of medical devices. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2007**, *40*, 4145–4154. [[CrossRef](#)]

12. Bormashenko, E.; Grynyov, R.; Bormashenko, Y.; Drori, E. Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds. *Sci. Rep.* **2012**, *2*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Filatova, I.; Azharonok, V.; Kadyrov, M.; Belyavsky, V.; Gvozdzov, A.; Shik, A.; Antonuk, A. The effect of plasma treatment of seeds of some grain and legumes on their sowing quality and productivity. *Romanian J. Phys.* **2011**, *56*, 139–143.
14. Avramidis, G.; Stüwe, B.; Richard, W.; Bellmann, M.; Stephan, W.; von Tiedemann, A.; Viöl, W. Fungicidal effects of an atmospheric pressure gas discharge and degradation mechanisms. *Surf. Coat. Technol.* **2010**, *205*, 405–408. [[CrossRef](#)]
15. Zahoranová, A.; Henselová, M.; Hudecová, D.; Kaliňáková, B.; Kováčik, D.; Medvecká, V.; Černák, M. Effect of cold atmospheric pressure plasma on the wheat seedlings vigor and on the inactivation of microorganisms on the seeds surface. *Plasma Chem. Plasma Process.* **2015**, *36*, 397–414. [[CrossRef](#)]
16. Ouf, S.A.; Basher, A.H.; Mohamed, A.-A.H. Inhibitory effect of double atmospheric pressure argon cold plasma on spores and mycotoxin production of *Aspergillus niger* contaminating date palm fruits. *J. Sci. Food Agric.* **2015**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Park, B.J.; Takatori, K.; Sugita-Konishi, Y.; Kim, I.-H.; Lee, M.-H.; Han, D.-W.; Chung, K.-H.; Hyun, S.O.; Park, J.-C. Degradation of mycotoxins using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. *Surf. Coat. Technol.* **2007**, *201*, 5733–5737. [[CrossRef](#)]
18. Lee, H.M.; Chang, M.B. Abatement of gas-phase p-xylene via dielectric barrier discharges. *Plasma Chem. Plasma Process.* **2003**, *23*, 541–558. [[CrossRef](#)]
19. Poll, H.U.; Schladitz, U.; Schreiter, S. Penetration of plasma effects into textile structures. *Surf. Coat. Technol.* **2001**. [[CrossRef](#)]
20. Kříž, P.; Olšan, P.; Havelka, Z.; Horáková, M.; Bartoš, P.; Vazdová, P.; Syamkrishna, B.; Špatenka, P. Seed Treatment and Water Purification by the Synergical Effect of Gliding Arc Plasma and Photocatalytic Film. *IEEE* **2014**. [[CrossRef](#)]
21. Kříž, P.; Petr, B.; Zbynek, H.; Jaromir, K.; Pavel, O.; Petr, S.; Miroslav, D. Influence of plasma treatment in open air on mycotoxin content and grain nutriment. *Plasma Med.* **2015**, *5*, 145–158. [[CrossRef](#)]
22. Bellmann, M.; Avramidis, G.; Wascher, R.; Viöl, W. Accelerated Germination and Altered Surface Characteristics of Pisum Sativum Seeds after Plasma Treatment at Atmospheric Pressure. In Proceedings of the Conference Plasma Surface Engineering, Garmisch-Partenkirchen, Germany, 15 September 2012.
23. Hopfe, V.; Sheel, D.W. Atmospheric-Pressure PECVD Coating and Plasma Chemical Etching for Continuous Processing. *IEEE Trans. Plasma Sci.* **2007**, *35*, 204–214. [[CrossRef](#)]
24. Eliasson, B.; Kogelschatz, U. Nonequilibrium volume plasma chemical processing. *IEEE Trans. Plasma Sci.* **1991**, *19*, 1063–1077. [[CrossRef](#)]
25. Efremov, A.M.; Kim, D.-P.; Kim, C.-I. Simple Model for Ion-Assisted Etching Using Coupled Plasma: Effect of Gas Mixing Ratio. *IEEE Trans. Plasma Sci.* **2004**, *32*, 1344–1351. [[CrossRef](#)]
26. Coburn, J.W.; Winters, H.F. Ion- and electron-assisted gas-surface chemistry—An important effect in plasma etching. *J. Appl. Phys.* **1979**, *50*, 3189–3196. [[CrossRef](#)]
27. Dorai, R.; Kushner, M.J. A model for plasma modification of polypropylene using atmospheric pressure discharges. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2003**, *36*, 666–685. [[CrossRef](#)]
28. Kuvaldina, E.V.; Shikova, T.G.; Smirnov, S.A.; Rybkin, V.V. Surface oxidation and degradation of polyethylene in a mixed argon-oxygen plasma. *High Energy Chem.* **2007**, *41*, 284–287. [[CrossRef](#)]
29. Jeong, J.Y.; Babayan, S.E.; Schütze, A.; Tu, V.J.; Park, J.; Henins, I.; Selwyn, G.S.; Hicks, R.F. Etching polyimide with a nonequilibrium atmospheric-pressure plasma jet. *J. Vac. Sci. Technol. A* **1999**, *17*, 2581–2585. [[CrossRef](#)]
30. Park, B.J.; Lee, D.H.; Park, J.-C.; Lee, I.-S.; Lee, K.-Y.; Hyun, S.O.; Chun, M.-S.; Chung, K.-H. Sterilization using a microwave-induced argon plasma system at atmospheric pressure. *Phys. Plasmas* **2003**, *10*, 4539–4544. [[CrossRef](#)]
31. Gröning, P.; Collaud, M.; Dietler, G.; Schlapbach, L. Plasma modification of polymethylmethacrylate and polyethyleneterephthalate surfaces. *J. Appl. Phys.* **1994**, *76*, 887–892. [[CrossRef](#)]
32. Klarhöfer, L.; Viöl, W.; Maus-Friedrichs, W. Electron spectroscopy on plasma treated lignin and cellulose. *Holzforschung* **2010**, *64*, 313–316. [[CrossRef](#)]
33. Khatibi, P.A.; Berger, G.; Wilson, J.; Brooks, W.S.; McMaster, N.; Griffey, C.A.; Hicks, K.B.; Nghiem, N.P.; Schmale, D.G. A comparison of two milling strategies to reduce the mycotoxin deoxynivalenol in barley. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 4204–4213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

34. Pinotti, L.; Ottoboni, M.; Giromini, C.; Dell'Orto, V.; Cheli, F. Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: A focus on cereal byproducts. *Toxins* **2016**, *8*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Visentin, I.; Montis, V.; Doll, K.; Alabouvette, C.; Tamietti, G.; Karlovsky, P.; Cardinale, F. Transcription of genes in the biosynthetic pathway for fumonisin mycotoxins is epigenetically and differentially regulated in the fungal maize pathogen *Fusarium verticillioides*. *Eukaryot. Cell* **2012**, *11*, 252–259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Bai, G.H. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. *Plant Dis.* **1996**, *80*, 975. [[CrossRef](#)]
37. Becker, E.-M.; Herrfurth, C.; Irmisch, S.; Kollner, T.G.; Feussner, I.; Karlovsky, P.; Splivallo, R. Infection of corn ears by *Fusarium* spp. induces the emission of volatile sesquiterpenes. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 5226–5236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Nutz, S.; Döll, K.; Karlovsky, P. Determination of the LOQ in real-time PCR by receiver operating characteristic curve analysis: Application to qPCR assays for *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum*. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 717–726. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Gerhard, C.; Roux, S.; Brückner, S.; Wieneke, S.; Viöl, W. Low-temperature atmospheric pressure argon plasma treatment and hybrid laser-plasma ablation of barite crown and heavy flint glass. *Appl. Opt.* **2012**, *51*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Ratzinger, A.; Riediger, N.; von Tiedemann, A.; Karlovsky, P. Salicylic acid and salicylic acid glucoside in xylem sap of *Brassica napus* infected with *Verticillium longisporum*. *J. Plant Res.* **2009**, *122*, 571–579. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Laurentin, H.; Ratzinger, A.; Karlovsky, P. Relationship between metabolic and genomic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.). *BMC Genom.* **2008**, *9*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Nassar, H.; Pellerin, S.; Musiol, K.; Martinie, O.; Pellerin, N.; Cormier, J.-M. N₂⁺/N₂ ratio and temperature measurements based on the first negative N₂⁺ and second positive N₂ overlapped molecular emission spectra. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2004**, *37*, 1904–1916. [[CrossRef](#)]
43. Paris, P.; Aints, M.; Valk, F.; Plank, T.; Haljaste, A.; Kozlov, K.V.; Wagner, H.-E. Intensity ratio of spectral bands of nitrogen as a measure of electric field strength in plasmas. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2005**, *38*, 3894–3899. [[CrossRef](#)]
44. Manley, T.C. The Electric Characteristics of the Ozonator Discharge. *Trans. Electrochem. Soc.* **1943**, *84*, 83–96. [[CrossRef](#)]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Erläuterungen zu den AutorInnen

Erklärung zu den Author Contributions der in der kumulativen Dissertation von Lars ten Bosch angeführten Veröffentlichung:

Plasma-Based Degradation of Mycotoxins Produced by Fusarium, Aspergillus and Alternaria Species

Lars ten Bosch, Katharina Pfohl, Georg Avramidis, Stephan Wieneke, Wolfgang Viöl, Petr Karlovsky

Journal: Toxins; 2017; 9(3);

doi: 10.3390/toxins9030097; (Web of Science Impact Factor: 3.895 (2017))

Ideen und Durchführung der Experimente zu den in dieser Veröffentlichung präsentierten Untersuchungen liegen bis auf die im Folgenden genannten Ergänzungen in Gänze bei Herrn Lars ten Bosch.

Mitwirkender: Dr. Georg Avramidis

Herr Dr. Georg Avramidis unterstützte Herrn Lars ten Bosch bei der Durchführung der Versuche zum Mykotoxinabbau mittels Plasma.

Mitwirkende: Dr. Katharina Pfohl

Frau Dr. Katharina Pfohl züchtete die verwendeten Pilzkulturen und produzierte so die verwendeten Mykotoxinproben in natürlicher Matrix. Darüber hinaus führte Frau Dr. Katharina Pfohl die Analyse der Proben mittels HPLC MS/MS durch.

Mitwirkender: Prof. Dr. Petr Karlovsky

In Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Petr Karlovsky und Frau Dr. Katharina Pfohl entstanden die präsentierten Graphen zu den Abbauraten der Mykotoxine.

Mitwirkender: Prof. Dr. Stephan Wieneke

Prof. Dr. Stephan Wieneke unterstützte die Arbeiten durch Diskussion und ergänzte einzelne Textpassagen.

Mitwirkender: Prof. Dr. Wolfgang Viöl

Prof. Dr. Wolfgang Viöl oblag die generelle Supervision die wissenschaftliche Leitung des Projekts: „Plasmagestützte Schädlingsbekämpfung im Alltag“ (Projekt-Nr. ZN 2779 und ZN 2872), in dessen Rahmen die präsentierten Untersuchungen stattfanden.

Prof. Dr. Petr Karlovsky sowie Prof Dr. Wolfgang Viöl und Prof. Dr. Stephan Wieneke stellten darüber hinaus die zur Durchführung der Versuche notwendigen Mittel und Infrastruktur zur Verfügung.

Auf Initiative Herrn Lars ten Boschs entstanden die gemeinsamen Entwürfe und Planungen der präsentierten Versuchsreihen sowie Ergebnisse in gemeinschaftlichen Diskussionen und Beratungen aller Beteiligten. Die präsentierten Arbeiten entstanden im Sinne eines Vorabprojekts zur Ermittlung der Einsatzmöglichkeiten kalter Atmosphärendruckplasmen zum Mykotoxinabbau im Agrar- und Lebensmittelbereich.

Alle weiteren Arbeiten, wie z.B. die Anfertigung des Texts, weitere Grafiken und Abbildungen zur Veröffentlichung sowie die Interpretation und Diskussion der Ergebnisse im Kontext der genannten Literatur lagen vollständig bei Herrn Lars ten Bosch. Die dargestellten Ergebnisse wurden von allen Autoren auf Plausibilität geprüft. Der veröffentlichte Text wurde von allen Mitautoren redigiert.

6 Diskussion und Ausblick

Im vorliegenden Kapitel werden die Erkenntnisse, welche im Rahmen dieser Arbeit und den darin veröffentlichten Studien gemacht werden konnten, zusammengeführt und diskutiert. Dabei werden die unterschiedlichen Aspekte, welche die Plasmatechnologie für Anwendungen im Bereich der Schädlingsbekämpfung darstellt, erläutert.

Brandenburg et al. kommen in ihrem Übersichtsartikel zur *Zukunft der Plasmaforschung in den Bereichen Umwelt, Gasumwandlung und Landwirtschaft* zu dem Schluss, dass die Plasmatechnologie ein großes Dekontaminationspotenzial mit sich bringt. Dies wird vor allem in der Möglichkeit zur Dekontamination von Luft, Wasser, Lebensmitteln und biologischen Oberflächen gesehen. Als zukunftssträchtige Anwendungen werden hierbei vor allem die Desinfektionsmöglichkeiten von Böden, Saatgut und frischen Lebensmitteln erörtert [75]. Der Aspekt der Schädlingsbekämpfung durch Plasmen wird in dieser und weiteren Veröffentlichungen (ausgenommen der Publikationen in Tabelle 3.1) jedoch häufig außer Acht gelassen. Das Gebiet der plasmabasierten Schädlingsbekämpfung (PBPM) bleibt aktuell und trotz seines hohen Potentials weitgehend unerforscht. Dabei wird der Ruf nach innovativen Technologien und Alternativen vor allem im landwirtschaftlichen Bereich immer größer, da auch in den kommenden Jahren eine Vielzahl zugelassener chemischer Wirkstoffe vor allem in der EU reevaluiert werden. Hierdurch ist mit einem zunehmendem Wegfall bisher genehmigter Schädlingsbekämpfungsmittel zu rechnen, welche eine empfindliche Lücke hinterlassen. Die prekäre Lage wird durch die Tatsache verstärkt, dass gegen einige der als unbedenklich eingestuften Pestizide bereits flächendeckende Resistenzen gebildet wurden [199–201].

Diese Situation macht die Erforschung neuer, alternativer Technologien für den Einsatz im landwirtschaftlichen und Lebensmittelbereich notwendig. Die unter Kapitel 3 sowie die in der vorliegenden Arbeit präsentierten Studien unternehmen erste Schritte in Richtung einer angewandten, plasmabasierten Schädlingsbekämpfung.

Die Ergebnisse am Modellorganismus *Pediculus humanus humanus* aus den Un-

tersuchungen in Kapitel 5.1 sowie die weiterführenden Versuche des Kapitels 5.2 am Beispiel menschlichen Haars zeigen deutlich, dass eine effektive und schonende Abtötung von Schadorganismen auf biologischem Material möglich ist. Positiv zu beurteilen ist vor allem der hohe Wirkungsgrad. Es soll an dieser Stelle noch einmal hervorgehoben werden, dass die in Kapitel 5.1 präsentierten und in [140] veröffentlichten Ergebnisse mittels eines einzigen Kämmzuges durchgeführt wurden. Eine wiederholte Applikation im Sinne eines *normalen* Kämmvorganges, welcher selbst unter Einhaltung aller Sicherheitsaspekte mehrere Minuten andauern kann, verspricht hierbei die umfassende Behandlung einer Pedikulose und damit die Abtötung aller Organismen und etwaig vorhandener Eier in einem einzigen Behandlungsvorgang.

Bei einer potentiellen Markteinführung eines solchen Produkts scheint zum aktuellen Zeitpunkt die Evaluation im Sinne einer medizinischen Studie zur Erhebung tatsächlich erzielbarer Abtötungsraten und Patientenverträglichkeiten aber unumgänglich. Aufgrund der Ähnlichkeit der erzeugten Plasmen zu den mit bereits zugelassenen und etablierten Plasmamedizinprodukten (z.B. PlasmaDerm™ etc.) erzeugten, ist hierbei aber nicht mit größeren Problemen bezüglich etwaiger Patientenunverträglichkeiten zu rechnen.

Die Ergebnisse der weiterführenden Untersuchungen in Kapitel 5.1 zu verantwortlichen Wirkmechanismen an einzelnen Individuen des Schädling *Pediculus humanus humanus* erlauben den Schluss, dass die bei der Anwendung des Plasmaläusekamms auftretenden hochenergetischen Filamente das Exoskelett der *Pediculus humanus humanus* effektiv schädigen. Die dieser Annahme zugrunde liegenden Zusammenhänge sowie offene Fragen werden im Folgenden noch einmal ausführlicher diskutiert.

Die Beobachtungen aus der Studie zur Wirksamkeit des Plasmaläusekamms zeigen den hohen Grad der Effektivität von Atmosphärendruckplasmen gegenüber dem Schädling *Pediculus humanus humanus* sowie deren Eier. Darüber ist es naheliegend, dass Plasmen nicht ausschließlich aufgrund entstehender reaktiver Spezies im Umfeld der Plasmazone des Kamms ihre insektizide Wirkung entfalten, sondern der unmittelbare Kontakt des Schädling mit der aktiven Plasmazone sowie den hier auftretenden Filamenten eine große Rolle spielt. Hierauf weisen die kurzen Zeiträume hin, innerhalb derer die erheblichen, entstehenden Schadbilder auftreten. Für eine erfolgreiche Effluentbehandlung, bei welcher reaktive Spezies für die Abtötung der Insekten verantwortlich wären, müsste, abhängig vom behandelten Schädling, deutlich längere Behandlungszeiten im Bereich mehrerer Minuten bis

Tage aufweisen [90, 202].

Eine erste Hypothese zum auftretenden Wirkmechanismus ergibt sich aus der Gänze der Beobachtungen, wie Sie bei Begutachtung behandelter Individuen unter Verwendung der unterschiedlichen bildgebenden Verfahren auftraten. Bei der Beobachtung behandelter Proben mittels Lichtmikroskop, zur Auszählung erfolgreich abgetöteter Individuen sowie Begutachtung des Verhaltens der betroffenen Tiere direkt nach der Behandlung, fanden sich erste Hinweise auf mögliche, relevante Wirkmechanismen. Es zeigte sich eine deutliche Beeinträchtigung des Bewegungsapparats der Tiere. Über einen Zeitraum von wenigen Minuten taumelten einige Individuen scheinbar ziellos umher. Dies wurde begleitet von einem innerhalb der ersten Minuten nach Behandlung auftretenden und über die Zeit zunehmenden eines hier als „Schwitzen“ bezeichneten Vorgangs, welcher erste Hinweise auf einen pathologischen Austritt von Hämolymphe zu geben scheint. Diese Beobachtungen waren gefolgt von der ebenfalls pathologischen Veränderung des Körperinneren, welches sich als Austreten des Darminhalts in den Thoraxbereich der Tiere mit Todesfolge zeigte (vergleiche Abb.: 5.1). Da bei den ersten Beobachtungen hierzu noch relativ lange Beobachtungszeiträume gewählt wurden (ca. 6 h), blieb der Zeithorizont des ersten Auftretens des Schadbilds zunächst unbestimmt. Es zeigte sich jedoch ein deutlich beschleunigtes Absterben und Austrocknen des gesamten Organismus, welches bei der Behandlung mit klassischen Insektiziden einen deutlich längeren Zeitraum in Anspruch nimmt [160, 161].

Um den Schaden im Körperinneren selbst zu lokalisieren und den Zeitpunkt dessen Auftretens zu bestimmen, wurden nun erste tomographische Untersuchungen unter Verwendung der Methodik der sog. *Optischen Kohärenztomographie* (OCT) durchgeführt. Diese erlaubten es das Schadereignis nach einer forcierten Plasmabehandlung von wenigen Sekunden auf einen Zeitpunkt wenige Minuten nach Ende der Behandlung zu terminieren. Das Ereignis trat hierbei während der Untersuchungen so plötzlich auf, dass das sofortige Abfallen des Probenkontrasts durch den austretenden Darminhalt hierbei eine Lokalisierung des Ereignisses verhindert wurde. Um nun die Lokalisation des Schadereignisses zu ermöglichen, wurde die als Lichtscheibenmikroskopie (SPIM) bekannte Diagnostik herangezogen. Hierbei wurde eine *in vivo*-Anfärbemethode entwickelt, welche sich die Möglichkeit der *in vitro*-Fütterung der Tiere über eine künstliche Membran nach *Habedank* [163] zu Nutze macht. Dies ermöglichte die Nutzung der SPIM Methodik, für welche im Regelfall hohe Transmissivität und geringe Probenabmessungen Grundvoraussetzung

sind. Die SPIM-Methode mit Aufbau nach *Candéo* und *Bassi* [165, 203] setzte voraus, dass die zu untersuchenden Proben in eine Agarose eingebettet sind. Dies dient der absoluten Positioniergenauigkeit der Probe während der Scans. Erst hierdurch ist garantiert, dass die unterschiedlichen Probenebenen relativ zu einander exakt positioniert sind, und auch Artefakte durch etwaige Bewegungen des Probenobjekts möglichst vermieden werden. Die Einbettung in der o. g. Agarose hatte aber zur Folge, dass die zuvor beobachteten, plötzlich auftretenden Schadereignisse nach einer forcierten Plasmabehandlung, die zum tödlichen Austritt des Darminhalts in das Körperinnere führten, ausblieben. Dies gilt unabhängig der Beobachtungszeiträume auch nach mehreren Minuten bis zu einer Stunde. Zusätzlich wurden über die langen Beobachtungszeiträume der SPIM-Proben von > 50 min Volumenzunahmen der behandelten und eingebetteten Organismen beobachtet. Diese Volumenzunahme kann auf einen osmotischen Wassereinstrom zurück zu führen sein, welche auf einer plasmainduzierten erhöhten Permeabilisierung der äußeren Chitinmembranen des Exoskeletts gründet. Diese Annahme ist in Übereinstimmung mit den Beobachtungen zum Austritt der Hämolymphe im Lichtmikroskop („Schwitzen“) und unterstreicht die Annahme zur Schädigung des Exoskeletts.

Die während der drei unterschiedlichen Untersuchungsmethoden gemachten Beobachtungen lassen nun den Schluss zu, dass neben einer Störung des Nervensystems der Tiere auch die äußere Membran bzw. das chitinhaltige Exoskelett der Insekten durch die Plasmabehandlung entscheidend geschädigt werden.

Bei einer Behandlung der Tiere auf natürlichem Haarmaterial im Lichtmikroskop ist zu beobachten, wie das Plasma bei Annäherung an eines der Schadinsekten bevorzugt zu diesem hin zündet. Erste Untersuchungen an größeren Insekten zeigten bei einer Plasmabehandlung außerdem deutlich, dass Entladungen bevorzugt zu Körperpartien zünden, welche besonders scharfe Kanten oder Spitzen aufweisen oder bei welchen besonders dünne Membranen als Trennschicht zwischen Hämolymphe und äußerer Umwelt anzutreffen sind, wie z. B. in den Gelenkbereichen zwischen Caput, Thorax und Abdomen sowie in den Gelenken zwischen Tarsus, Tibia und Femur ³⁶, welche die Extremitäten darstellen. Diese Membranen können bei Insekten so geringer Abmessungen wie der *Anoplura* Dicken von weniger als $1\text{ }\mu\text{m}$ aufweisen. Auch die durch feinste Membranen sehr empfindlich eingebetteten Sensillen der Tiere, welche über unterschiedlichste Körperregionen verteilt auftreten, z. B. die Trichobothria bieten gegenüber einer elektrischen Entladung einen besonderen An-

³⁶Bezeichnet die einzelnen Glieder der Insektenbeine.

griffspunkt. Die durch die an ihren Spitzen auftretenden Radien von deutlich unter $1\text{ }\mu\text{m}$ bieten die Möglichkeit Feldüberhöhungen zu verursachen, welche die durch den Plasmaläusekamm angelegten Felder um ein Vielfaches übersteigen können. Dieses Problem der Feldüberhöhung an Spitzen ist aus der Elektrostatik bekannt und ergibt sich direkt aus dem Coulombschen Gesetz [121, 204], welches zeigt, dass sich das elektrische Feld proportional zum Reziprok des Quadrats des Radius verhält. Die Plasmaentladung, deren Filamente so bevorzugt entlang der lokal fokussierten Feldlinien zu den Sensillen und Extremitäten zünden, hat so die Möglichkeit an den hier vorhandenen, dünnen Membranen bevorzugt Schäden zu verursachen. Dies führt dann zu einem Austritt der Hämolymphe, was sich als „Schwitzen“ bemerkbar macht. Ob die so verursachten Schäden infolge der Temperatur der Filamente oder des elektrischen Durchschlags des chitinhaltigen Exoskeletts verursacht werden, muss weiterhin untersucht werden.

Die Ruptur an den inneren Organen nahe des Thoraxbereichs kann nun ihrerseits durch eine interne Membranschädigung hervorgerufen werden, welche ihre Ursache in dem hier lokalisierten Stromfluss finden. Hierfür wäre Voraussetzung, dass der durch Sensillen eintretende Strom über das Körperinnere in Richtung der Extremitäten z. B. über den Tarsus³⁷ fließt. Ein so verursachtes ohmsches Heizen des Körperinneren wäre die Folge. Diesem Ansatz stehen aber die mittels LIF gemessenen relativ moderaten Temperaturanstiege im Läuseinneren entgegen, welche sich auf einen Temperaturanstieg von ca. 1 K s^{-1} belaufen.

Es existieren jedoch auch unterschiedliche Theorien zu den Mechanismen einer Membranschädigung induziert durch elektrische Felder hoher Feldstärken. Zum Einen werden diese direkt auf elektro-mechanische Instabilitäten zurückgeführt, welche durch das Überschreiten kritischer Transmembranpotentiale zu erklären ist (ca. 1 kV cm^{-1} – 2 kV cm^{-1} für Pflanzenzellen u. 10 kV cm^{-1} – 14 kV cm^{-1} für mikrobielle Zellen z. B. *E. coli*)[205], zum Anderen existiert die Theorie das Membranschädigung durch eine elektrisch induzierte molekulare Neuorientierung verursacht wird[206]. Unabhängig von der zugrundeliegenden Theorie jedoch sind sich unterschiedliche Quellen, welche sich mit der elektrisch induzierten Membranschädigung befassen einig, dass die Größe der verursachten Poren innerhalb der geschädigten Membranen maßgeblich für ihre Reversibilität ist.

Da die Schädigung des Exoskeletts als schnell zu beobachtender Effekt auftritt, die pathologische Schädigung im Läuseinneren jedoch mit einigen Minuten zeitverzögert

³⁷Fuß- und Klauenbereich

auftritt, ist deshalb ein weiterer möglicher Effekt zur berücksichtigen.

Bei der Betrachtung des Problems des Reißens innerer Organe bei plasmabehandelten Insekten ist ein weiterer Aspekt, welcher nicht außer Acht gelassen werden sollte, die Befähigung von Insekten den Druck innerhalb Ihrer Körperhöhle und damit u. A. Ihren Blutdruck bzw. Hämolymphtdruck sowie dessen Zirkulation und somit die Atmung lagebedingt zu variieren. Dies wurde eindrücklich in einer Studie zur *Physiological Responses to Gravity in an Insect* von *Harrison et al.* gezeigt [207]. Die Studie von *Harrison et al.* zeigt auf, dass aktive Regulationsprozesse greifen müssen, um gravitatorisch-lageabhängig verursachte Einflüsse auf das kardiovaskuläre System der Tiere zu kompensieren. Offen hierbei ist, durch welche sensorischen Systeme diese Reaktionen induziert werden, z. B. das sog. Johnston-Organ oder weitere barometrische Systeme, welche mit denen der Wirbeltiere vergleichbar sind. Sollten diese Systeme aber, wie in [207] veröffentlicht einen aktiven Druckausgleich im Thorax und im Abdomen verursachen, so besteht die Möglichkeit, dass ein fehlinduzierter Druckausgleich nach einer Plasmabehandlung hervorgerufen wird. Dieser kann sowohl durch einen tatsächlichen Druckabfall im Körperinneren, infolge austretender Hämolymphe über das Exoskelett, verursacht werden als auch durch eine Fehlfunktion der verantwortlichen sensorischen Organe, welche direkt durch die starken, oszillierenden elektrischen Felder des Plasmas verursacht werden. Diese aktive Regulationsreaktion des Organismus könnte so zu einer Ruptur innerer Organe infolge eines zu hohen Druckanstiegs führen. Der negative Einfluss einer Plasmabehandlung auf das Nervensystem der Tiere, welches auch als kurze Orientierungslosigkeit im Nachgang einer Behandlung (siehe auch Kapitel 5.1) beobachtet werden konnte, ist bekannt [79, 80]. Für die Hypothese des plasmainduzierten Druckausgleichsproblems in Insekten sprechen darüber hinaus erste Beobachtungen zur Volumenzunahme und des Ausbleibens des Rupturereignisses, die während der SPIM-Untersuchungen gemacht wurden. Der Beantwortung der Frage nach dem verantwortlichen Wirkmechanismus bzw. dem Zusammenspiel der auftretenden Effekte sollte weiter nachgegangen werden, um so die Möglichkeiten einer effektiven plasmabasierten Schädlingsbekämpfung weiter auszuloten.

Mit weiterem Blick auf den klinischen Einsatz der Plasmatechnologie in Form des Plasmaläusekamms zur Behandlung Pedikulosen wurden in Kapitel 5.1 und 5.2 etwaige negative Auswirkungen des Plasmaläusekamms auf den Endanwender untersucht. Hierfür wurden die auftretenden Ozonkonzentrationen ebenso bestimmt wie die während einer Behandlung vorherrschenden Patientenableitströme. Ein

künftiger Patient erfährt ebenso eine Exposition gegenüber etwaiger UV-Strahlung, welche bei der Erzeugung von Plasmen in Luft stets auftritt. Die Studie untersuchte die auftretenden Konzentrationen, Ströme respektive Intensitäten. Es konnte hierbei gezeigt werden, dass gängige Grenzwerte bei relevanten Behandlungsabständen nicht nur eingehalten, sondern deutlich unterschritten werden. Die auftretende Ozonkonzentration stellt durch ihren mitunter deutlich wahrnehmbaren Geruch dennoch einen Aspekt dar, welcher unter Gesichtspunkten der Anwenderfreundlichkeit adressiert werden sollte.

Neben der Eignung direkt applizierter Plasmabehandlungen zur Insektenbekämpfung wurden in Kapitel 5.3 plasmabehandelte Flüssigkeiten hinsichtlich ihrer insektiziden Wirkung evaluiert. PAW's/PAM's zeigten hierbei gegenüber den Schädlingen *Planococcus citri* sowie *Aphis fabae* eine gute Wirksamkeit. Die Phytotoxizität der erzeugten Flüssigkeiten, wie sie auf Bohnenpflanzen zu beobachten war, ist hierbei vor allem auf die starke Ansäuerung zurückzuführen. Von phosphatgepufferten Lösungen (PBS) ist bekannt, dass eine desinfizierende Wirkung, z.B. gegenüber *E. coli* auch ohne die deutliche Reduzierung des pH-Werts der Lösung eintritt. Untersuchungen zur insektiziden Wirkung von plasmabehandelten Pufferlösungen stehen zum aktuellen Zeitpunkt noch aus. Bei den Untersuchungen zur Einsatzmöglichkeit von PAW's *in situ* zeigte sich aber, dass der Einsatz geringer Mengen (hier 15 ml) bei feiner Zerstäubung eine insektizide Wirkung entfaltet ohne robustere Pflanze, wie *Oleander nerium* zu beschädigen. Die Wirksamkeit feiner Sprühnebel ist auch aus einer Studie von *Ebihara et al.* bekannt, bei welcher die Wirksamkeit aber auf eine Anreicherung von Ozon in Lösung zurückgeführt wird [90]. Weitere Untersuchungen zur erhöhten Wirksamkeit feiner Sprühnebel weisen darauf hin, dass eine solche Technologie kombiniert mit PAW's/PAM's eine vielversprechende Möglichkeit zur Desinfektion von Wunden, Lebensmitteln bis hin zu kontaminierten Arbeitsflächen oder Ställen darstellen könnte. Die veröffentlichten Studien, welche bereits ohne PAW's gute Desinfektionsleistungen aufweisen, bezeichnen die hierbei gezielt erzeugten, nur wenige nm großen Tröpfchen als *engineered water nano structures* (EWNS) [208, 209].

Aufgrund des dominierenden Nicht-Gleichgewichtscharakters der verwendeten Entladungen ist es möglich die Temperaturen des behandelten *Bulk*-Materials, z.B. Haare eines Endanwenders oder befallenes Saatgut, nahe der Raumtemperatur zu halten. Die Erzeugung kalter Plasmen wird u.A. durch die Verwendung dielektrischer Schichten innerhalb des Elektrodenaufbaus bzw. einer kapazitiven

elektrischen Ankopplung der verwendeten metallischen Elektroden, wie z. B. beim Plasmaläusekamm ermöglicht (vergl. auch die unterschiedlichen Elektrodenkonfigurationen von DBE's in [18, 120, 121]).

Diese gute (Temperatur-) Verträglichkeit der Plasmen von unterschiedlichsten biologischen Materialien sowie auftretende proliferierende Effekte bringen bei der Pflanzenanzucht große Vorteile mit sich. Dies konnte vielfach u.A. von *Zhang et al.* [58], *Henselova et al.* [210], *Stolárik* [211] und *Zahoranova* [212, 213] gezeigt werden. Diese Eigenschaften machen den Ansatz des PBPM besonders, da die Plasmatechnologie somit z.B. auch in der Saatgutlagerung eine Alternative zu herkömmlichen Schädlingsregulierungsmitteln darstellt. Strategien wie z.B. die Verwendung der von *Müller-Blenkle et al.* präsentierten "Beetle Sound Tube"[214] in Kombination mit Behandlungsmethoden, welche zur Abtötung der Insekten und ihrer Eier plasmatechnologische Verfahren zum Einsatz bringen, bieten die Möglichkeit den Einsatz von Pestiziden weiter zu reduzieren.

Die hier gezeigten Plasmen eignen sich jedoch nicht ausschließlich zur pestizid-freien Bekämpfung von Schadinsekten. Wie vor einigen Jahren gezeigt, besteht ebenso die Möglichkeit unter Verwendung von kADP Mykotoxine von Lebens- und Futtermitteln zu entfernen [62, 65, 68, 69, 158, 159, 215]. Die Bedeutung der Plasmatechnologie zur Entfernung sekundärer Pilzmetaboliten wird aus der Vielzahl der Veröffentlichungen bzw. Review-Artikel ersichtlich, welche das Thema in den vergangenen Jahren bewertet haben. Das Novum der im Rahmen der vorliegenden Arbeit dargestellten Ergebnisse ist dabei jedoch das Aufzeigen der Relevanz der Probenmatrix, welche beim Dekontaminationsprozess berücksichtigt werden muss. Die auf natürlichem Weg durch Metabolisierungsvorgänge der Pilze gebildeten Toxine sind stets in einer Matrix aus Proteinen, Nähr- und Füllstoffen eingebettet. Viele der bisher veröffentlichten Studien arbeiteten entweder mit Reinstoffen bzw. mit nachträglich, oberflächlich kontaminiertem Probenmaterial. Das führt dazu, dass die Abbauraten dieser *idealen Proben* nicht mit denen real, in natürlich kontaminierten Proben zu Findenden übereinstimmen [64].

Weitere Aspekte die einer späteren vollständigen Dekontamination entgegen stehen, bzw. die besonders berücksichtigt werden müssen liegen in der natürlichen Verteilung der Toxine innerhalb eines befallenen Korns, bzw. im potentiellen Verlust nicht minder vom plasmabasierten Abbau betroffenen Nährstoffen und Vitaminen. Das heißt zum Einen, dass eine vollständige Entfernung der aus einem kontaminierten Getreide nicht immer möglich ist, da eine Plasmabehandlung ein oberflächliches

wirkendes Verfahren darstellt. Unter Vernachlässigung etwaiger Diffusionskonstanten ist bei der Behandlung solcher Proben, von einer Eindringtiefe von nur einige 100 nm auszugehen. Tieferliegende Toxine werden höchstwahrscheinlich nicht abgebaut. Wird das Getreide aufgeschlossen bzw. gemahlen, ist eine verbesserte Wirksamkeit anzunehmen. Jedoch kommt hier dann auch der zweitgenannte Aspekt einer verstärkten Zerstörung eigentlich erwünschter Nährstoffe und Vitamine zum Tragen. Es sind deshalb Folgestudien angedacht, welche das optimale Reinigungsergebnis und die dafür notwendigen Maßnahmen evaluieren sollen.

Die in dieser Arbeit aufgezeigten Einsatzmöglichkeiten gehen weit über die pestizidfreie und sichere technologische Option zur Pedikulogetherapie hinaus. Durch geeignete konstruktiv und parametrisch angepasste Varianten scheint es möglich auch alternative therapeutische Ansätze für weitere humanparasitär verursachte Krankheitsbilder zu adressieren, wie z.B. die Behandlung von Krätz-, Räude- und Demodexmilben. Auch eine Behandlung weiterer human- und veterinärmedizinisch relevanter Schädlinge (Zecken, Flöhe, Vogelmilben etc.) sollte durch die Anwendung plasmabasierter Therapieformen möglich werden. Die Anwendungspotentiale kalter Atmosphärendruckplasmen im Bereich des *Plasma Based Pest Management* weisen eine Vielzahl möglicher, alternativer Behandlungsmethoden auf, welche ergänzend oder substituierend zu chemischen Methoden im landwirtschaftlichen Sektor Anwendung finden können. Sie bietet die Möglichkeit technologische Lösungen zu entwickeln, welche simultan eine Vielzahl existierender Problemstellungen adressieren könnte. Durch die Option proliferierend, insektizid sowie benetzungsverbessernd wirkende Plasmen durch geeignete Parametrisierung innerhalb baulich ähnlicher Gerätevarianten zu realisieren, wird eine kosteneffiziente Implementierung eines plasmatechnologischen Elements im landwirtschaftlichen Sektor als Ergänzung und Alternative zu herkömmlichen Methoden besonders attraktiv. Die hier gemachten Erkenntnisse flossen in Teilen in die Bearbeitung einiger Folgeprojekte ein, welche sowohl auf die sichere und schnelle Etablierung der Technologie in den jeweiligen Sektoren sowie auf die weitere Erforschung eines grundlegenden Verständnisses zu verantwortlichen Wechselwirkungsmechanismen abzielt. Von besonderem Interesse ist hierbei auch die technische Umsetzung und Modifikation relevanter Parameter existierender Plasmaquellen für die Applikation in der Veterinärmedizin z. B. in der Masttierhaltung.

Abbildungsverzeichnis

3.1	Graphische Darstellung möglicher Synergien und Ziele im Bereich der "Plasma-Life-Sciences"	9
3.2	Historischer Verlauf der Anzahl veröffentlichter Artikel pro Jahr sortiert nach den Suchbegriffen: <i>Plasma Agriculture</i> (schwarz), <i>Plasma Medicine</i> (rot) und <i>Plasma Seed treatment</i> (grün). Die Publikationslage unterstreicht deutlich den Neuheitsgrad, welcher der Plasmatechnologie im Agrarbereich zugemessen werden kann. Ein Vergleich mit Tab.: 3.1 ermöglicht eine vergleichbare Aussage für den Bereich der plasmabasierten Schädlingsbekämpfung (PBPM). Verwendung der Daten mit freundlicher Genehmigung von <i>Clarivate Analytics</i> , (<i>Journal Citation Reports Science Edition</i> (<i>Clarivate Analytics</i> , 2019)).	12
3.3	Planungen des Europäischen Parlaments zum Verbot aktuell in der EU zugelassener Pestizide (Stand 08/2019: 478 Mittel zugelassen). Der Graph basiert auf den frei zugänglichen Daten der <i>Pestiziddatenbank</i> des Europäischen Parlaments zu finden unter ec.europa.eu/food/plant/pesticides . Es wird ersichtlich, dass avisierete Verbote, welche bis zum Jahre 2025 einsetzbaren Mittel vorrsl. um mehr als 360 Stck. reduzieren wird.	13
4.1	Klassifizierung unterschiedlicher in Natur und Technik auftretender Plasmen eingeordnet nach Teilchentemperaturen und Elektronendichten (in Anlehnung an [120])	30
4.2	Schematische Darstellung auftretender Entladungsregime (orange) sowie Ihre Einteilung in raumladungsfreie sowie raumladungsbeschwerte Entladung, hier in doppelt logarithmischer Darstellung (in Anlehnung an [121])	32

4.3	Prinzipskizze zur Darstellung des Verhaltens der Temperaturen T_e und T_G am Beispiel einer Bogenentladung in Abhängigkeit vom Druck (in Anlehnung an [125])	34
4.4	Prinzipskizze zur Einordnung im Dichte-/Frequenzraum aufgetragen über der Temperatur seiner Ionen/Neutralteilchen, in Anlehnung an [116]	35
4.5	Mit realen Werten des sog. <i>Plasmaläusekamms</i> (Gastemp.: 600 K, Ionisationsgrad: $1 \cdot 10^{-6}$ bei $1 \cdot 10^5$ Pa) berechnete EEVF in Luft (Annahme $n_{N_2} : 0,78$, $n_{O_2} : 0,22$) für eine reduzierte Feldstärke von 210 Td (siehe Kapitel 5.1). Verwendeter Solver: <i>BOLSIG+</i> -Version 11/2019 [149]; Daten zu Wechselwirkungsquerschnitten aus: <i>Morgan database, www.lxcat.net, retrieved on February 4, 2020</i> . Hieraus ergibt sich nach <i>Hagelaar u. Pitchford</i> [149] eine mittlere Elektronenenergie von 5,1 eV.	43
5.1	Durch Plasmaexposition verursachtes Schadbild an drittem Larvenstadium der <i>Pediculus humanus h.</i> . Beobachtungszeit nach Behandlung: ca. 6 h. Es ist ein starkes Einfallen der Gliedmaßen sowie des Torsos zu verzeichnen. Eine Schädigung im Inneren der Laus verursachte das Austreten des Darminhalts in die Körperhöhle, zu erkennen an Bluteinlagerungen in Brust- und Beinbereichen (veröffentlicht in [140].)	72
5.2	Vergleich der <i>OCT</i> -Scans einer intakten, unbehandelten Probe mit bekannten anatomischen Details (Handskizze Bildmitte in Anlehnung an [168]). Links: Bilder des dorsalen Bereichs einer Laus im Transversalschnitt (Zuordnung der Schnittebenen durch rote Pfeile.) Rechts: Sagittalschnitt (in linksseitiger Ansicht) des dorsalen Bereichs der selben Probe. Abbildung d) zeigt darüber hinaus in der linken Bildhälfte einige Artefakte in Linienform. Um einen umfassenderen Eindruck auch aus größeren Tiefen der Probe zu bekommen wäre eine Rotation der Probe sinnvoll, um bei der Bildrekonstruktion in Bezug auf unterschiedliche Artefakte eine Verbesserung der Darstellung zu erzielen. Auch Abb.a) weist in der unteren Bildhälfte einige Artefakte auf, deren Beseitigung bei der Darstellung der hier präsentierten Ergebnisse zur Machbarkeit nicht im Fokus stand. . .	73

- 5.3 Bild a) zeigt linksseitig einen Abschnitt des Kopfs mittig den Thorax und rechtsseitig ein Drittel des Abdomens einer eingefallenen Laus nach erfolgter Plasmaexposition. Bild b) zeigt eine sagittale Schnittebene, welche entlang der rot gekennzeichneten Linie in a) verläuft. Bild c) zeigt den transversalen Schnitt welcher entlang der blauen Linie in a) verläuft. Im direkten Vergleich von Bild c) zu 5.2 a-c) wird klar ersichtlich wie der Kontrast der inneren Organe nach dem Eintritt des Rupturereignisses stark abgenommen hat. Eine Lokalisierung der Ruptur ist damit unmöglich. Auch hier weisen die Bilder b) und c) in der unteren Bildhälfte einige Artefakte auf (vergleiche Abb.5.2. 75
- 5.4 Montage einer Bildfolge von *SPIM*-Scans zur Verdeutlichung der Auflösung sowie der sichtbar werdenden Organe der untersuchten Läuse. Das Bild zeigt Sagittalschnitte einer Laus, welche sich von Bild 1 mit steigender Zahl in proximaler Richtung fortsetzen. Es ist zu erkennen wie der Kontrast im ventralen Bereich der Tiere deutlich abnimmt sobald der gefüllte Darm erreicht wird. Das ventral gelegene Myzetom stellt ein prominentes Merkmal dar, welches mit Fortschreiten der Scan-Ebene in proximaler Richtung deutlich hervortritt; der zugesetzte Farbstoff scheint in diesem Bereich stark absorbiert zu werden. Es wurden 12 Bilder/s aufgenommen, wobei die beleuchtete Objektebene einer Dicke von ca. 2 μ m entspricht (Z-Achse). 76
- 5.5 Vergrößert dargestellte Bildausschnitte aus Abb. 5.4 links: Bild 1, Zeile 1; rechts: Bild 7 Zeile 2. Anatomische Merkmale der männlichen Laus wie Testikel (Strukturen im linken Bild) sowie das ventral gelegen Myzetom (heller *Fleck* im Hinterleib; rechtes Bild) sind deutlich zu erkennen. Beim Fortschreiten der Scan-Ebene in Richtung Körpermitte wird deutlich wie der prall gefüllte Darm eine eindeutige Unterscheidung der Organe erschwert. 77

5.6	Darstellung der auftretenden Intensitätsdifferenzen eines Mischsignals der beiden Farbstoffe Rhodamin B und Sulforhodamin 101 bei einer Temperaturdifferenz von 4 °C (blau) bzw. 16 °C (rot). Bei den hier dargestellten Signalen handelt es sich um geglättete Originalsignale aus angefärbtem Blutserum im Läuseinneren bei Anregung durch Laserstrahlung der Wellenlänge $\lambda = 532$ nm. Zur Glättung der Daten wurde ein Filter nach Savitzky-Golay 2. polynomieller Ordnung mit $k=60$ verwendet. Dies bietet gegenüber einer Glättung mittels gleitenden Durchschnitt den Vorteil, dass die Gaußform des Rhodamin B-Peaks bei relativ guter Glättung des Gesamtsignals erhalten bleibt. Die Intensitätsverteilung der einzelnen Fluoreszenzfarbstoffe in Blutserum ist ergänzend hierzu auch noch einmal in Abb. 5.7 dargestellt.	80
5.7	Beispieldarstellung der auftretenden Emissionen der Farbstoffe Rhodamin B (schwarz), Sulforhodamin 101 (rot), sowie deren Überlagerungssignal (blau). Bei den dargestellten Signalen handelt es sich um geglättete Originalsignale aus angefärbtem Blutserum bei Anregung durch Laserstrahlung der Wellenlänge $\lambda = 532$ nm. Vergleichend mit den Emissionssignalen der Farbstoffe in Wasser, wie in [169] veröffentlicht, fällt die reduzierte Emission des in Blutserum gelösten SR101 im Bereich 590 nm – 610 nm auf, was sich Vorteilhaft auf die Auswertemöglichkeiten mit nur einem Kamerasystem auswirkt.	81
5.8	Temperaturverlauf im Läuseinnern bei einer mehrere Sekunden andauernden Plasmabehandlung ($N=28$). Die blaue Gerade gibt die ideale Aufheizung der Laus an, welche sich ohne Wärmeabgabe einstellen würde.	82
5.9	Beispiel einer für die Temperaturbestimmung präparierten Laus. Diese wurde auf einem Kunststofffilament montiert und zeigt deutlich die gleichmäßige Anfärbung der Hämolymphe durch die Farbstoffe <i>RhB</i> und <i>SRh101</i>	82
5.10	Handskizze zur Darstellung des inneren Aufbaus und der hierdurch Entstehenden der Haarstruktur (in Anlehnung an [170–172]) zur weiteren Verbesserung des Verständnisses der Diskussion der nachfolgenden Veröffentlichung.	85

5.11	Entwicklung der Koloniegrößen der <i>Planococcus citri</i> auf behandelten (rot, N=3) und unbehandelten Pflanzen (schwarz, N=3) der Art <i>Oleander nerium</i>	113
5.12	Deutliche Reduzierung der wollartigen Wachsschicht der <i>Planococcus citri</i> innerhalb von 6 Tagen, bei der Verwendung von 15 ml PAW als Pflanzenschutzmittel. Die Versuche wurden auf Pflanzen der Art <i>Oleander nerium</i> durchgeführt.	114
5.13	Abtötungsraten bei Anwendung von PAW (pH 2) auf Individuen der <i>Aphis fabae</i> innerhalb von 24 h. Gezeigt werden Abtötungsraten in den Gruppen PAW (grün), LW (rot) und einer Kontrollgruppe (schwarz). Hierbei stehen PAW für das plasmabehandelte Wasser, LW für unbehandeltes Leitungswasser. Die Gruppen bestanden hierbei aus je 10 Tieren, wobei die Kontrollgruppe ohne Zugabe von Flüssigkeit in einer Petrischale gehalten wurde.	115

7 Literaturverzeichnis

- [1] R. Morar, I. Suarasan, S. Budu, I. Ghizdavu, M. Porca und L. Dascalescu, »Corona discharge effects on some parasitical insects of cultured plants,« *Journal of Electrostatics*, Jg. 40-41, S. 669–673, 1997, ISSN: 0304-3886. DOI: 10.1016/S0304-3886(97)00113-7.
- [2] H. M. Mott-Smith, »History of Plasmas,« *Nature*, Nr. 233, 1971. Adresse: <https://www.nature.com/nature/volumes/233/issues/5316>.
- [3] I. Langmuir, »Oscillations in Ionized Gases,« *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Jg. 14, Nr. 8, S. 627–637, 1928, ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.14.8.627.
- [4] M. Robinson, »A History of the Electric Wind,« *American Journal of Physics*, Jg. 30, Nr. 5, S. 366–372, 1962, ISSN: 0002-9505. DOI: 10.1119/1.1942021.
- [5] A. Schutze, J. Y. Jeong, S. E. Babayan, J. Park, G. S. Selwyn und R. F. Hicks, »The atmospheric-pressure plasma jet: a review and comparison to other plasma sources,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 26, Nr. 6, S. 1685–1694, 1998, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/27.747887.
- [6] D. Ochs, »HIPIMS Power for Improved Thin Film Coatings,« *Vakuum in Forschung und Praxis*, Jg. 20, Nr. 4, S. 34–38, 2008, ISSN: 0947076X. DOI: 10.1002/vipr.200800362.
- [7] M. G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill, T. Nosenko, T. Shimizu, J. van Dijk und J. L. Zimmermann, »Plasma medicine: an introductory review,« *New Journal of Physics*, Jg. 11, Nr. 11, S. 115 012, 2009, ISSN: 1367-2630. DOI: 10.1088/1367-2630/11/11/115012. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1367-2630/11/11/115012/pdf>.
- [8] C. Gerhard, S. Roux, S. Brückner, S. Wieneke und W. Viöl, »Atmospheric pressure argon plasma-assisted enhancement of laser ablation of aluminum,« *Applied Physics A*, Jg. 108, Nr. 1, S. 107–112, 2012, ISSN: 0947-8396. DOI: 10.1007/s00339-012-6942-2.
- [9] B. A. Niemira, »Cold plasma decontamination of foods,« *Annual review of food science and technology*, Jg. 3, S. 125–142, 2012, ISSN: 1941-1413. DOI: 10.1146/annurev-food-022811-101132.

- [10] C. Gerhard, S. Roux, S. Brückner, S. Wieneke und W. Viöl, »Low-temperature atmospheric pressure argon plasma treatment and hybrid laser-plasma ablation of barite crown and heavy flint glass,« *Applied Optics*, Jg. 51, Nr. 17, S. 3847–3852, 2012, ISSN: 2155-3165. DOI: 10.1364/AO.51.003847. Adresse: <https://www.osapublishing.org/viewmedia.cfm?uri=ao-51-17-3847&seq=0>.
- [11] Y. Peng, S. Zhang, F. Zhu, W. Li, Y. Yi, K. Du und Q. Yin, »Fabrication and Characterization of Fluorinated Polyimides (PI) Films with Improved Hydrophobic Property,« *NANO*, Jg. 13, Nr. 7, 2018, ISSN: 1793-2920. DOI: 10.1142/S1793292018500807.
- [12] O. Auciello und D. L. Flamm, *Plasma Diagnostics: Surface Analysis and Interactions*, Ser. Plasma-Materials Interactions. Burlington: Elsevier Science, 1989, Bd. v.V2, ISBN: 0-12-067636-2. Adresse: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&AN=893390>.
- [13] M. Simek, M. Cernak, O. Kylian, R. Foest, D. Hegemann und R. Martini, »White paper on the future of plasma science for optics and glass,« *PLASMA PROCESSES AND POLYMERS*, Jg. 16, Nr. 1, SI, 2019, ISSN: 1612-8850. DOI: 10.1002/ppap.201700250.
- [14] J. E. Harry, *Introduction to plasma technology: Science, engineering and applications*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2010, ISBN: 1283302381. DOI: 10.1002/9783527632169. Adresse: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=399450>.
- [15] Y. Kawai und H. Ikegami, Hrsg., *Industrial plasma technology: Applications from environmental to energy technologies ; [Third International School of Advanced Plasma Technology ... Villa Monastero, Varenna, from July 28 to July 31, 2008]*. Weinheim: Wiley-VCH, 2010, ISBN: 9783527325443.
- [16] C. S. Wong und R. Mongkolkeha, *Elements of plasma technology*, Ser. Springer briefs in applied sciences and technology. Singapore: Springer Science+Business Media, 2016, ISBN: 9811001154. Adresse: <http://www.springer.com/>.
- [17] P. K. Chu und X. Lu, Hrsg., *Low temperature plasma technology: Methods and applications*, First issued in paperback. Boca Raton, London und New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2020, ISBN: 9780367576363.
- [18] U. Kogelschatz, »Dielectric-Barrier Discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications,« *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, Jg. 23, Nr. 1, S. 1–46, 2003, ISSN: 02724324. DOI: 10.1023/A:1022470901385.
- [19] W. Siemens, »Ueber die elektrostatische Induction und die Verzögerung des Stroms in Flaschendrähnen,« *Annalen der Physik und Chemie*, Jg. 178, Nr. 9, S. 66–122, 1857, ISSN: 00033804. DOI: 10.1002/andp.18571780905.
- [20] M. Erb, »Zur Sterilisierung des Trinkwasser durch Ozon,« Jg. 324, S. 586–588, 1909. Adresse: <http://dingler.culture.hu-berlin.de/article/pj324/ar324180>.

- [21] W. Roeske und K. Ritter, Hrsg., *Trinkwasserdesinfektion: Grundlagen, Verfahren, Anlagen, Geräte, Mikrobiologie, Chlorung, Ozonung, UV-Bestrahlung, Membranfiltration, Qualitätssicherung*, 2. Aufl. München: Oldenbourg, 2007, ISBN: 3-8356-3119-5.
- [22] D. B. Graves, »The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 45, Nr. 26, S. 263 001, 2012, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0022-3727/45/26/263001. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0022-3727/45/26/263001/pdf>.
- [23] —, »Mechanisms of Plasma Medicine: Coupling Plasma Physics, Biochemistry, and Biology,« *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*, Jg. 1, Nr. 4, S. 281–292, 2017, ISSN: 2469-7311. DOI: 10.1109/TRPMS.2017.2710880.
- [24] T. Shimizu, T. Nosenko, G. E. Morfill, T. Sato, H.-U. Schmidt und T. Urayama, »Characterization of Low-Temperature Microwave Plasma Treatment With and Without UV Light for Disinfection,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 7, Nr. 3-4, S. 288–293, 2010, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.200900085.
- [25] A. Sakudo und H. Shintani, *Sterilization and disinfection by plasma: Sterilization mechanisms, biological and medical applications*, Ser. Medical devices and equipment. Hauppauge, N.Y: Nova Science Publishers, 2011, ISBN: 9781616687823. Adresse: <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10680835>.
- [26] A. Sakudo, Y. Yagyu und T. Onodera, »Disinfection and Sterilization Using Plasma Technology: Fundamentals and Future Perspectives for Biological Applications,« *International journal of molecular sciences*, Jg. 20, Nr. 20, 2019. DOI: 10.3390/ijms20205216.
- [27] T. C. Montie, K. Kelly-Wintenberg und J. R. Roth, »An overview of research using the one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP) for sterilization of surfaces and materials,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 28, Nr. 1, S. 41–50, 2000, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/27.842860.
- [28] U. Kogelschatz, »Filamentary, patterned, and diffuse barrier discharges,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 30, Nr. 4, S. 1400–1408, 2002, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2002.804201.
- [29] R. E. J. Sladek und E. Stoffels, »Deactivation of Escherichia coli by the plasma needle,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 38, Nr. 11, S. 1716–1721, 2005, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0022-3727/38/11/012.
- [30] J. Goree, B. Liu, D. Drake und E. Stoffels, »Killing of S. mutans Bacteria Using a Plasma Needle at Atmospheric Pressure,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 34, Nr. 4, S. 1317–1324, 2006, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2006.878431.
- [31] X. Lu, Y. Cao, P. Yang, Q. Xiong, Z. Xiong, Y. Xian und Y. Pan, »An RC Plasma Device for Sterilization of Root Canal of Teeth,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 37, Nr. 5, S. 668–673, 2009, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2009.2015454.

- [32] T. Nosenko, T. Shimizu und G. E. Morfill, »Designing plasmas for chronic wound disinfection,« *New Journal of Physics*, Jg. 11, Nr. 11, S. 115 013, 2009, ISSN: 1367-2630. DOI: 10.1088/1367-2630/11/11/115013. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1367-2630/11/11/115013/pdf>.
- [33] K. Oehmigen, M. Hähnel, R. Brandenburg, C. Wilke, K.-D. Weltmann und T. von Woedtke, »The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 7, Nr. 3-4, S. 250–257, 2010, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.200900077.
- [34] S. U. Kalghatgi, G. Fridman, M. Cooper, G. Nagaraj, M. Peddinghaus, M. Balasubramanian, V. N. Vasilets, A. F. Gutsol, A. Fridman und G. Friedman, »Mechanism of Blood Coagulation by Nonthermal Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge Plasma,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 35, Nr. 5, S. 1559–1566, 2007, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2007.905953.
- [35] G. Fridman, G. Friedman, A. Gutsol, A. B. Shekhter, V. N. Vasilets und A. Fridman, »Applied Plasma Medicine,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 5, Nr. 6, S. 503–533, 2008, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.200700154.
- [36] X. Lu, Z. Jiang, Q. Xiong, Z. Tang, X. Hu und Y. Pan, »An 11cm long atmospheric pressure cold plasma plume for applications of plasma medicine,« *Applied Physics Letters*, Jg. 92, Nr. 8, S. 081 502, 2008, ISSN: 0003-6951. DOI: 10.1063/1.2883945.
- [37] E. Stoffels, Y. Sakiyama und D. B. Graves, »Cold Atmospheric Plasma: Charged Species and Their Interactions With Cells and Tissues,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 36, Nr. 4, S. 1441–1457, 2008, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2008.2001084.
- [38] J. Heinlin, G. Morfill, M. Landthaler, W. Stolz, G. Isbary, J. L. Zimmermann, T. Shimizu und S. Karrer, »Plasma medicine: possible applications in dermatology,« *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*, Jg. 8, Nr. 12, S. 968–976, 2010. DOI: 10.1111/j.1610-0387.2010.07495.x.
- [39] M. Vandamme, E. Robert, S. Pesnel, E. Barbosa, S. Dozias, J. Sobilo, S. Lerondel, A. Le Pape und J.-M. Pouvesle, »Antitumor Effect of Plasma Treatment on U87 Glioma Xenografts: Preliminary Results,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 7, Nr. 3-4, S. 264–273, 2010, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.200900080.
- [40] K. D. Weltmann, E. Kindel, T. von Woedtke, M. Hähnel, M. Stieber und R. Brandenburg, »Atmospheric-pressure plasma sources: Prospective tools for plasma medicine,« *Pure and Applied Chemistry*, Jg. 82, Nr. 6, S. 1223–1237, 2010, ISSN: 0033-4545. DOI: 10.1351/PAC-CON-09-10-35.
- [41] J. Heinlin, G. Isbary, W. Stolz, G. Morfill, M. Landthaler, T. Shimizu, B. Steffes, T. Nosenko, J. Zimmermann und S. Karrer, »Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology,« *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, Jg. 25, Nr. 1, S. 1–11, 2011. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2010.03702.x.

- [42] M. Vandamme, E. Robert, S. Lerondel, V. Sarron, D. Ries, S. Dozias, J. Sobilo, D. Gosset, C. Kieda, B. Legrain, J.-M. Pouvesle und A. Le Pape, »ROS implication in a new antitumor strategy based on non-thermal plasma,« *International journal of cancer*, Jg. 130, Nr. 9, S. 2185–2194, 2012. DOI: 10.1002/ijc.26252.
- [43] T. von Woedtke, S. Reuter, K. Masur und K.-D. Weltmann, »Plasmas for medicine,« *Physics Reports*, Jg. 530, Nr. 4, S. 291–320, 2013, ISSN: 03701573. DOI: 10.1016/j.physrep.2013.05.005.
- [44] M. Laroussi, »Plasma Medicine: A Brief Introduction,« *Plasma*, Jg. 1, Nr. 1, S. 47–60, 2018. DOI: 10.3390/plasma1010005.
- [45] H.-R. Metelmann, T. von Woedtke und K.-D. Weltmann, Hrsg., *Comprehensive Clinical Plasma Medicine: Cold Physical Plasma for Medical Application*. Cham: Springer International Publishing, 2018, ISBN: 9783319676265. DOI: 10.1007/978-3-319-67627-2. Adresse: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&AN=1804491>.
- [46] A. Khlyustova, C. Labay, Z. Machala, M.-P. Ginebra und C. Canal, »Important parameters in plasma jets for the production of RONS in liquids for plasma medicine: A brief review,« *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, Jg. 13, Nr. 2, S. 238–252, 2019, ISSN: 2095-0179. DOI: 10.1007/s11705-019-1801-8.
- [47] T. von Woedtke, A. Schmidt, S. Bekeschus, K. Wende und K.-D. Weltmann, »Plasma Medicine: A Field of Applied Redox Biology,« *In vivo (Athens, Greece)*, Jg. 33, Nr. 4, S. 1011–1026, 2019. DOI: 10.21873/invivo.11570.
- [48] H.-R. Metelmann, T. von Woedtke und K.-D. Weltmann, Hrsg., *Plasmamedizin: Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin, Heidelberg und s.l.: Springer Berlin Heidelberg, 2016, ISBN: 9783662526453. DOI: 10.1007/978-3-662-52645-3.
- [49] A. Bogaerts, M. Yusupov, J. Razzokov und J. van der Paal, »Plasma for cancer treatment: How can RONS penetrate through the cell membrane? Answers from computer modeling,« *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, Jg. 13, Nr. 2, S. 253–263, 2019, ISSN: 2095-0179. DOI: 10.1007/s11705-018-1786-8.
- [50] M. J. Pavlovich, Z. Chen, Y. Sakiyama, D. S. Clark und D. B. Graves, »Effect of Discharge Parameters and Surface Characteristics on Ambient-Gas Plasma Disinfection,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 10, Nr. 1, S. 69–76, 2013, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.201200073.
- [51] D. B. Graves, »Reactive Species from Cold Atmospheric Plasma: Implications for Cancer Therapy,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 11, Nr. 12, S. 1120–1127, 2014, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.201400068.
- [52] P. J. Bruggeman, N. Sadeghi, D. C. Schram und V. Linss, »Gas temperature determination from rotational lines in non-equilibrium plasmas: a review,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 23, Nr. 2, S. 023001, 2014, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0963-0252/23/2/023001.

- [53] G. Bauer, D. Sersenová, D. B. Graves und Z. Machala, »Cold Atmospheric Plasma and Plasma-Activated Medium Trigger RONS-Based Tumor Cell Apoptosis,« *SCIENTIFIC REPORTS*, Jg. 9, Nr. 1, S. 14 210, 2019, ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-019-50291-0.
- [54] A. Lin, Y. Gorbanev, J. de Backer, J. van Loenhout, W. van Boxem, F. Lemièrre, P. Cos, S. Dewilde, E. Smits und A. Bogaerts, »Non-Thermal Plasma as a Unique Delivery System of Short-Lived Reactive Oxygen and Nitrogen Species for Immunogenic Cell Death in Melanoma Cells,« *Advanced science (Weinheim, Baden-Württemberg, Germany)*, Jg. 6, Nr. 6, S. 1 802 062, 2019, ISSN: 2198-3844. DOI: 10.1002/adv.201802062.
- [55] A. R. Gibson, H. O. McCarthy, A. A. Ali, D. O’Connell und W. G. Graham, »Interactions of a Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Effluent with PC-3 Prostate Cancer Cells,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 11, Nr. 12, S. 1142–1149, 2014, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.201400111.
- [56] P. J. Bruggeman, M. J. Kushner, B. R. Locke, J. G. E. Gardeniers, W. G. Graham, D. B. Graves, R. C. H. M. Hofman-Caris, D. Maric, J. P. Reid, E. Ceriani, D. Fernandez Rivas, J. E. Foster, S. C. Garrick, Y. Gorbanev, S. Hamaguchi, F. Iza, H. Jablonowski, E. Klimova, J. Kolb, F. Krcma, P. Lukes, Z. Machala, I. Marinov, D. Mariotti, S. Mededovic Thagard, D. Minakata, E. C. Neyts, J. Pawlat, Z. L. Petrovic, R. Pflieger, S. Reuter, D. C. Schram, S. Schröter, M. Shiraiwa, B. Tarabová, P. A. Tsai, J. R. R. Verlet, T. von Woedtke, K. R. Wilson, K. Yasui und G. Zvereva, »Plasma–liquid interactions: a review and roadmap,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 25, Nr. 5, S. 053 002, 2016, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0963-0252/25/5/053002.
- [57] Y. Meiqiang, H. Mingjing, M. Buzhou und M. Tengcai, »Stimulating Effects of Seed Treatment by Magnetized Plasma on Tomato Growth and Yield,« *Plasma Science and Technology*, Jg. 7, Nr. 6, S. 3143, 2005, ISSN: 1009-0630. DOI: 10.1088/1009-0630/7/6/017. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1009-0630/7/6/017/pdf>.
- [58] S. Zhang, A. Rousseau und T. Dufour, »Promoting lentil germination and stem growth by plasma activated tap water, demineralized water and liquid fertilizer,« *RSC Advances*, Jg. 7, Nr. 50, S. 31 244–31 251, 2017. DOI: 10.1039/C7RA04663D.
- [59] Lars ten Bosch, Wolfgang Viöl, Stephan Wieneke, Robert Köhler, Alexander Syring, »Verfahren und Vorrichtung zur Trocknung und plasmagestützten Desinfektion von Händen: A47K10/48,« Pat. DE102015119446 (B3), 2017.
- [60] N. N. Misra, S. K. Pankaj, T. Walsh, F. O’Regan, P. Bourke und P. J. Cullen, »In-package nonthermal plasma degradation of pesticides on fresh produce,« *Journal of Hazardous Materials*, Jg. 271, S. 33–40, 2014, ISSN: 0304-3894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.02.005. Adresse: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389414000958>.

- [61] C. Sarangapani, N. N. Misra, V. Milosavljevic, P. Bourke, F. O'Regan und P. J. Cullen, »Pesticide degradation in water using atmospheric air cold plasma,« *Journal of Water Process Engineering*, Jg. 9, S. 225–232, 2016, ISSN: 2214-7144. DOI: 10.1016/j.jwpe.2016.01.003. Adresse: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221471441630006X>.
- [62] B. J. Park, K. Takatori, Y. Sugita-Konishi, I.-H. Kim, M.-H. Lee, D.-W. Han, K.-H. Chung, S. O. Hyun und J.-C. Park, »Degradation of mycotoxins using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure,« *Surface and Coatings Technology*, Jg. 201, Nr. 9-11, S. 5733–5737, 2007, ISSN: 02578972. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2006.07.092.
- [63] I. Siciliano, D. Spadaro, A. Prella, D. Vallauri, M. C. Cavallero, A. Garibaldi und M. L. Gullino, »Use of Cold Atmospheric Plasma to Detoxify Hazelnuts from Aflatoxins,« *Toxins*, Jg. 8, Nr. 5, 2016. DOI: 10.3390/toxins8050125.
- [64] L. ten Bosch, K. Pfohl, G. Avramidis, S. Wieneke, W. Viöl und P. Karlovsky, »Plasma-Based Degradation of Mycotoxins Produced by Fusarium, Aspergillus and Alternaria Species,« *Toxins*, Jg. 9, Nr. 3, 2017. DOI: 10.3390/toxins9030097.
- [65] N. Hojnik, U. Cvelbar, G. Tavčar-Kalcher, J. L. Walsh und I. Križaj, »Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus "Classic" Decontamination,« *Toxins*, Jg. 9, Nr. 5, 2017. DOI: 10.3390/toxins9050151.
- [66] A. Sakudo, Y. Toyokawa, T. Misawa und Y. Imanishi, »Degradation and detoxification of aflatoxin B 1 using nitrogen gas plasma generated by a static induction thyristor as a pulsed power supply,« *FOOD CONTROL*, Jg. 73, S. 619–626, 2017, ISSN: 0956-7135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.09.014.
- [67] S. K. Pankaj, H. Shi und K. M. Keener, »A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food,« *Trends in Food Science & Technology*, Jg. 71, S. 73–83, 2018, ISSN: 0924-2244. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.11.007.
- [68] N. Hojnik, M. Modic, G. Tavčar-Kalcher, J. Babič, J. L. Walsh und U. Cvelbar, »Mycotoxin Decontamination Efficacy of Atmospheric Pressure Air Plasma,« *Toxins*, Jg. 11, Nr. 4, 2019. DOI: 10.3390/toxins11040219.
- [69] N. N. Misra, B. Yadav, M. S. Roopesh und C. Jo, »Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications,« *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Jg. 18, Nr. 1, S. 106–120, 2019, ISSN: 15414337. DOI: 10.1111/1541-4337.12398.
- [70] J. Jiafeng, H. Xin, L. Ling, L. Jiangang, S. Hanliang, X. Qilai, Y. Renhong und D. Yuanhua, »Effect of Cold Plasma Treatment on Seed Germination and Growth of Wheat,« *Plasma Science and Technology*, Jg. 16, Nr. 1, S. 54, 2014, ISSN: 1009-0630. DOI: 10.1088/1009-0630/16/1/12. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1009-0630/16/1/12/pdf>.

- [71] L. Ling, J. Jiafeng, L. Jiangang, S. Minchong, H. Xin, S. Hanliang und D. Yuanhua, »Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean,« *SCIENTIFIC REPORTS*, Jg. 4, S. 5859, 2014, ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/srep05859.
- [72] S. A. Fahdlalmawla, A.-A. H. Mohamed, J. Q. M. Almarashi, T. Boutraa und (Keine Angabe), »The impact of cold atmospheric pressure plasma jet on seed germination and seedlings growth of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): Fahdlalmawla, Sahar A.; Mohamed, Abdel-Aleam H.; Almarashi, Jamal Q. M.; Boutraa, Tahar,« *Plasma Science and Technology*, Jg. 21, Nr. 10, S. 105503, 2019, ISSN: 1009-0630. DOI: 10.1088/2058-6272/ab2a3e. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2058-6272/ab2a3e/pdf>.
- [73] H. Shimizu, T. Hiraguri, M. Kimoto, K. Ota, T. Shindo, Y. Hoshino und K. Takaki, »Stimulatory growth effect of lightning strikes applied in the vicinity of shiitake mushroom bed logs,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 53, Nr. 20, S. 204002, 2020, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/1361-6463/ab7627.
- [74] M. Ito, T. Ohta und M. Hori, »Plasma agriculture,« *Journal of the Korean Physical Society*, Jg. 60, Nr. 6, S. 937–943, 2012, ISSN: 0374-4884. DOI: 10.3938/jkps.60.937.
- [75] R. Brandenburg, A. Bogaerts, W. Bongers, A. Fridman, G. Fridman, B. R. Locke, V. Miller, S. Reuter, M. Schiorlin, T. Verreycken und K. Ostrikov, »White paper on the future of plasma science in environment, for gas conversion and agriculture,« *PLASMA PROCESSES AND POLYMERS*, Jg. 16, Nr. 1, SI, 2019, ISSN: 1612-8850. DOI: 10.1002/ppap.201700238.
- [76] Europäische Union, *Vertrag über die Arbeitsweise der Europäischen Union: AEUV*, 26.10.2012. Adresse: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:12012E/TXT>.
- [77] Europäische Rat, *VERORDNUNG (EU) 2019/1021 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES über persistente organische Schadstoffe: PE/61/2019/REV/1*, 2019. Adresse: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX%3A32019R1021>.
- [78] A. A. Mishenko, O. A. Malinin, V. M. Rashkovan, A. V. Basteev, L. A. Bazyma, Y. P. Mazalov und V. A. Kutovoy, »Complex High-Frequency Technology Protection of Grain Against Pests,« *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, Jg. 35, Nr. 3, S. 179–184, 2000, ISSN: 0832-7823. DOI: 10.1080/08327823.2000.11688435.
- [79] Brian Lee Bures, »Rapid Mortality of Pest Athropods by Direct Exposure to a Dielectric Barrier Discharge,« Diss., North Carolina State University, North Carolina, 2004. Adresse: <http://www.lib.ncsu.edu/resolver/1840.16/5917>.
- [80] Kevin Vincent Donohue, »Analysis of the effects of a dielectric barrier discharge on arthropod pests,« Master Thesis, North Carolina State University, North Carolina, 2005.

- [81] Brian Lee Bures, Kevin Vincent Donohue, R. Michael Roe. und M. A. Bourham, »Visualization of helium dielectric barrier discharge treatment of green peach aphids on tobacco leaves,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 33, Nr. 2, S. 290–291, 2005, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2005.845035.
- [82] B. L. Bures, Kevin Vincent Donohue, R. Michael Roe und Mohamed A. Bourham, »Nonchemical dielectric barrier discharge treatment as a method of insect control,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 34, Nr. 1, S. 55–62, 2006, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2005.863595.
- [83] K. V. Donohue, B. L. Bures, M. A. Bourham und R. M. Roe, »Mode of action of a novel nonchemical method of insect control: atmospheric pressure plasma discharge,« *JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY*, Jg. 99, Nr. 1, S. 38–47, 2006, ISSN: 0022-0493. DOI: 10.1093/jee/99.1.38.
- [84] K. V. Donohue, B. L. Bures, M. A. Bourham und R. Michael Roe, »Effects of Temperature and Molecular Oxygen on the Use of Atmospheric Pressure Plasma as a Novel Method for Insect Control,« *JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY*, Jg. 101, Nr. 2, S. 302–308, 2008, ISSN: 0022-0493. DOI: 10.1093/jee/101.2.302.
- [85] Mona F. Abd El-Aziz, Eman A. Mahmoud und Ga. M. Elaragi, »Non thermal plasma for control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae),« 2014.
- [86] Eman A. Mahmoud, Mona F. Abd El-Aziz und G. M. Elaragi, »Electron microscope and cold plasma as new techniques for scanning weevil testes, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver) Coleopteran: Curculionidae,« *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, Jg. 8, Nr. 8, S. 21–30, 2015.
- [87] A. M. R. El-Sabea, J. R. Faleiro und M. M. Abo-El-Saad, »The threat of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* to date plantations of the Gulf region in the Middle-East: An economic perspective,« *Outlooks on Pest Management*, Jg. 20, Nr. 3, S. 131–134, 2009, ISSN: 17431026. DOI: 10.1564/20jun11.
- [88] K. R. Ramanan, R. Sarumathi und R. Mahendran, »Influence of cold plasma on mortality rate of different life stages of *Tribolium castaneum* on refined wheat flour,« *JOURNAL OF STORED PRODUCTS RESEARCH*, Jg. 77, S. 126–134, 2018, ISSN: 0022-474X. DOI: 10.1016/j.jspr.2018.04.006.
- [89] D. B. Graves, »Low temperature plasma biomedicine: A tutorial review,« *PHYSICS OF PLASMAS*, Jg. 21, Nr. 8, S. 080901, 2014, ISSN: 1070-664X. DOI: 10.1063/1.4892534.
- [90] K. Ebihara, F. Mitsugi, T. Ikegami, N. Nakamura, Y. Hashimoto, Y. Yamashita, S. Baba, H. D. Stryczewska, J. Pawlat, S. Teii und T.-L. Sung, »Ozone-mist spray sterilization for pest control in agricultural management,« *The European Physical Journal Applied Physics*, Jg. 61, Nr. 2, S. 24318, 2013, ISSN: 1286-0042. DOI: 10.1051/epjap/2012120420.

- [91] D. H. Kwon, H.-S. Kim und M.-R. Park, »Plasma-based organism evaluation equipment using atmospheric-pressure plasma jets: Efficacy for controlling insect pests,« *Journal of Asia-Pacific Entomology*, Jg. 22, Nr. 3, S. 868–873, 2019, ISSN: 1226-8615. DOI: 10.1016/j.aspen.2019.06.011.
- [92] Shahrzad Mahammadi, Sohrab Imani, Davoud Dorranean und M. S. Siavash Tirgari, »The effect of non-thermal plasma to control of stored product pests and changes in some characters of wheat materials,« *J. Bio. & Env. Sci.*, Jg. 7, Nr. 5, S. 150–156, 2015.
- [93] M. Kaplan, »Bumblebees sense electric fields in flowers,« *Nature*, 2013. DOI: 10.1038/nature.2013.12480.
- [94] D. Clarke, H. Whitney, G. Sutton und D. Robert, »Detection and learning of floral electric fields by bumblebees,« *Science (New York, N.Y.)*, Jg. 340, Nr. 6128, S. 66–69, 2013. DOI: 10.1126/science.1230883.
- [95] E. A. Backus, F. A. Cervantes, L. Godfrey, W. Akbar, T. L. Clark und M. G. Rojas, »Certain applied electrical signals during EPG cause negative effects on stylet probing behaviors by adult *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae),« *Journal of insect physiology*, Jg. 105, S. 64–75, 2018. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2017.12.006.
- [96] A. F. Dittmer, »Experiments on the Scattering of Electrons by Ionized Mercury Vapor,« *Physical Review*, Jg. 28, Nr. 3, S. 507–520, 1926, ISSN: 0031-899X. DOI: 10.1103/PhysRev.28.507.
- [97] F. M. Penning, »Scattering of Electrons in Ionised Gases,« *Nature*, Jg. 118, Nr. 2965, S. 301, 1926. DOI: 10.1038/118301a0.
- [98] K. T. A. L. Burm, »Plasma: The Fourth State of Matter,« *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, Jg. 32, Nr. 2, S. 401–407, 2012, ISSN: 02724324. DOI: 10.1007/s11090-012-9356-1.
- [99] A. A. Fridman und L. A. Kennedy, *Plasma physics and engineering*, 2. ed. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2011, ISBN: 9781439812280.
- [100] R. Brandenburg, »Dielectric barrier discharges: progress on plasma sources and on the understanding of regimes and single filaments,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 26, Nr. 5, S. 053 001, 2017, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/1361-6595/aa6426. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6595/aa6426/pdf>.
- [101] S. Brandt, F. D. Klute, A. Schütz und J. Franzke, »Dielectric barrier discharges applied for soft ionization and their mechanism,« *ANALYTICA CHIMICA ACTA*, Jg. 951, S. 16–31, 2017, ISSN: 0003-2670. DOI: 10.1016/j.aca.2016.10.037. Adresse: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267016312673>.
- [102] T. Hoder, M. Šíra, K. V. Kozlov und H.-E. Wagner, »Investigation of the coplanar barrier discharge in synthetic air at atmospheric pressure by cross-correlation spectroscopy,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 41, Nr. 3, S. 035 212, 2008, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0022-3727/41/3/035212.

- [103] M. Černák, L. Černáková, I. Hudec, D. Kováčik und A. Zahoranová, »Diffuse Coplanar Surface Barrier Discharge and its applications for in-line processing of low-added-value materials,« *The European Physical Journal Applied Physics*, Jg. 47, Nr. 2, S. 22 806, 2009, ISSN: 1286-0042. DOI: 10.1051/epjap/2009131.
- [104] T. Murata, Y. Okita, M. Noguchi und I. Takase, »Basic Parameters of Coplanar Discharge Ozone Generator,« *Ozone: Science & Engineering*, Jg. 26, Nr. 5, S. 429–442, 2004, ISSN: 0191-9512. DOI: 10.1080/01919510490507577.
- [105] P. R. Taylor und S. A. Pirzada, »Thermal plasma processing of materials: A review,« *Advanced Performance Materials*, Jg. 1, Nr. 1, S. 35–50, 1994, ISSN: 0929-1881. DOI: 10.1007/BF00705312.
- [106] R. K. Marcus, *Glow Discharge Spectroscopies*. Boston, MA: Springer US, 1993, ISBN: 978-1-4899-2396-7. DOI: 10.1007/978-1-4899-2394-3.
- [107] F. Massines, A. Rabehi, P. Decomps, R. B. Gadri, P. Ségur und C. Mayoux, »Experimental and theoretical study of a glow discharge at atmospheric pressure controlled by dielectric barrier,« *JOURNAL OF APPLIED PHYSICS*, Jg. 83, Nr. 6, S. 2950–2957, 1998, ISSN: 0021-8979. DOI: 10.1063/1.367051.
- [108] P. Bruggeman, J. Liu, J. Degroote, M. G. Kong, J. Vierendeels und C. Leys, »Dc excited glow discharges in atmospheric pressure air in pin-to-water electrode systems,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 41, Nr. 21, S. 215 201, 2008, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0022-3727/41/21/215201. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0022-3727/41/21/215201/pdf>.
- [109] P. Bruggeman und R. Brandenburg, »Atmospheric pressure discharge filaments and microplasmas: physics, chemistry and diagnostics,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 46, Nr. 46, S. 464 001, 2013, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0022-3727/46/46/464001. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0022-3727/46/46/464001/pdf>.
- [110] G. Nayak, Y. Du, R. Brandenburg und P. J. Bruggeman, »Effect of air flow on the micro-discharge dynamics in an array of integrated coaxial microhollow dielectric barrier discharges,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 26, Nr. 3, S. 035 001, 2017, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/1361-6595/aa56a4. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6595/aa56a4/pdf>.
- [111] T. Shimizu, V. Lachner und J. L. Zimmermann, »Surface Microdischarge Plasma for Disinfection,« *Plasma Medicine*, Jg. 7, Nr. 2, S. 175–185, 2017, ISSN: 1947-5764. DOI: 10.1615/PlasmaMed.2017019455.
- [112] K. Takahashi, H. Akahoshi, C. Charles, R. W. Boswell und A. Ando, »High temperature electrons exhausted from rf plasma sources along a magnetic nozzle,« *PHYSICS OF PLASMAS*, Jg. 24, Nr. 8, S. 084 503, 2017, ISSN: 1070-664X. DOI: 10.1063/1.4990110.

- [113] R. Brandenburg, J. Ehlbeck, M. Stieber, T. v. Woedtke, J. Zeymer, O. Schlüter und K.-D. Weltmann, »Antimicrobial Treatment of Heat Sensitive Materials by Means of Atmospheric Pressure Rf-Driven Plasma Jet,« *Contributions to Plasma Physics*, Jg. 47, Nr. 1-2, S. 72–79, 2007, ISSN: 08631042. DOI: 10.1002/ctpp.200710011.
- [114] B. Berger, K. You, H.-C. Lee, T. Mussenbrock, P. Awakowicz und J. Schulze, »Observation of the generation of multiple electron beams during a single sheath expansion phase in capacitive RF plasmas,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 27, Nr. 12, 12LT02, 2018, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/1361-6595/aaefc7. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6595/aaefc7/pdf>.
- [115] A. A. Fridman, *Plasma chemistry*. Cambridge: Cambridge University Press, 2012, ISBN: 9781107684935. DOI: 10.1017/CB09780511546075.
- [116] A. P. Thorne, *Spectrophysics*, 2. Aufl. Dordrecht: Springer Netherlands, 1988, ISBN: 9780412274701. DOI: 10.1007/978-94-009-1193-2.
- [117] D. A. Frank-Kamenetskii, *Plasma: The Fourth State of Matter*. Boston, MA: Springer US, 1972, ISBN: 9781468418989. DOI: 10.1007/978-1-4684-1896-5.
- [118] M. A. Lieberman und A. J. Lichtenberg, *Principles of plasma discharges and materials processing*, 2nd ed. Hoboken N.J.: Wiley-Interscience, 2005.
- [119] H. E. Debye P., »Theorie der Elektrolyte. I. Gefrierpunktserniedrigung und verwandte Erscheinungen],« *Physikalische Zeitschrift*, Jg. 24, Nr. 9, S. 185–206, 1923. Adresse: <https://www.semanticscholar.org>.
- [120] Andreas Helmke, »Physikalische und mikrobiologische Studien zu Therapiepotentialen und -risiken für die Anwendung nicht-thermischer Physikalische und mikrobiologische Studien zu Therapiepotentialen und -risiken für die Anwendung nicht-thermischer Atmosphärendruckplasmen an kutanen Oberflächen,« Dissertationsschrift, Technische Universität Clausthal, Clausthal-Zellerfeld, 18.12.2013. Adresse: <https://www.iept.tu-clausthal.de/en/research-groups/atomic-and-molecular-physics-at-surfaces/dissertations-and-other-theses/>.
- [121] A. Küchler, *Hochspannungstechnik: Grundlagen - Technologie - Anwendungen*, Ser. Hochspannungstechnik. Berlin, Heidelberg und s.l.: Springer Berlin Heidelberg, 1996, ISBN: 9783662220009. DOI: 10.1007/978-3-662-21999-7.
- [122] John Sealy Townsend, »The Theory of Ionisation of Gases by Collision,« *Nature*, Jg. 85, Nr. 2152, S. 400–401, 1911. DOI: 10.1038/085400b0.
- [123] D. Xiao, Hrsg., *Gas Discharge and Gas Insulation*, 1st ed. 2016, Ser. Energy and Environment Research in China. Shanghai, China und Heidelberg: Shanghai Jiao Tong University Press, 2016, Bd. 6, ISBN: 978-3-662-48040-3. DOI: 10.1007/978-3-662-48041-0.

- [124] D. Staack, B. Farouk, A. F. Gutsol und A. A. Fridman, »Spectroscopic studies and rotational and vibrational temperature measurements of atmospheric pressure normal glow plasma discharges in air,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 15, Nr. 4, S. 818, 2006, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/0963-0252/15/4/027. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0963-0252/15/4/027/pdf>.
- [125] A. v. Keudell, »Einführung in die Plasmaphysik II: Niedertemperaturplasmen,« Vorlesungsskript, Ruhr Universität Bochum, Bochum, 26.11.2013. Adresse: <https://www.ep2.ruhr-uni-bochum.de/files/skripte/skriptpp2>.
- [126] D. Meschede, *Gerthsen Physik*, 25. Aufl., Ser. Springer-Lehrbuch. Berlin: Springer Spektrum, 2015, ISBN: 9783662459768. DOI: 10.1007/978-3-662-45977-5.
- [127] B. E. A. Saleh und M. C. Teich, *Fundamentals of photonics*, Second edition, Ser. Wiley series in pure and applied optics. Hoboken, New Jersey: Wiley-Interscience, 2007, ISBN: 9780471358329.
- [128] S. Chapman, »Boltzmann's H-Theorem,« *Nature*, Jg. 139, Nr. 3526, S. 931, 1937. DOI: 10.1038/139931a0.
- [129] J. C. Reid, D. J. Evans und D. J. Searles, »Communication: Beyond Boltzmann's H-theorem: demonstration of the relaxation theorem for a non-monotonic approach to equilibrium,« *The Journal of chemical physics*, Jg. 136, Nr. 2, S. 021 101, 2012. DOI: 10.1063/1.3675847.
- [130] L. Boltzmann und D. Flamm, *Entropie und Wahrscheinlichkeit: (1872 - 1905)*, 1. Aufl., Ser. Ostwalds Klassiker der exakten Wissenschaften. Thun: Deutsch, 2000, Bd. 286, ISBN: 3817132867.
- [131] F. Hasenöhl, Hrsg., *Ludwig Boltzmann: Wissenschaftliche Abhandlungen, Band I (1865-1874)*, 1. Aufl. Leipzig: Verlag von Johann Ambrosius Barth, 1909, Bd. 1. Adresse: <https://phaidra.univie.ac.at/view/o:63647>.
- [132] F. Hasenöhl, Hrsg., *Ludwig Boltzmann: Wissenschaftliche Abhandlungen, Band II (1875-1881)*. Leipzig: Verlag von Johann Ambrosius Barth, 1909, Bd. 2. Adresse: <https://phaidra.univie.ac.at/o:63651>.
- [133] F. Hasenöhl, Hrsg., *Ludwig Boltzmann: Wissenschaftliche Abhandlungen, Band III (1882-1905)*, 1. Aufl. Leipzig: Verlag von Johann Ambrosius Barth, 1909, Bd. 3, ISBN: <https://phaidra.univie.ac.at/o:63654>.
- [134] R. C. Dunbar, »Deriving the Maxwell distribution,« *Journal of Chemical Education*, Jg. 59, Nr. 1, S. 22, 1982, ISSN: 0021-9584. DOI: 10.1021/ed059p22.
- [135] M. N. Saha, »LIII. Ionization in the solar chromosphere,« *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, Jg. 40, Nr. 238, S. 472–488, 1920, ISSN: 1941-5982. DOI: 10.1080/14786441008636148.
- [136] R. P. Feynman, R. B. Leighton und M. Sands, *The Feynman lectures on physics*, New millenium edition. New York: Basic Books, 2010, ISBN: 9780465023820.

- [137] Fujimoto und McWhirter, »Validity criteria for local thermodynamic equilibrium in plasma spectroscopy,« *Physical review. A, Atomic, molecular, and optical physics*, Jg. 42, Nr. 11, S. 6588–6601, 1990, ISSN: 1050-2947. DOI: 10.1103/physreva.42.6588.
- [138] H. R. Griem, »Validity of Local Thermal Equilibrium in Plasma Spectroscopy,« *Physical Review*, Jg. 131, Nr. 3, S. 1170–1176, 1963, ISSN: 0031-899X. DOI: 10.1103/PhysRev.131.1170.
- [139] M. Numano, »Criteria for local thermodynamic equilibrium distributions of populations of excited atoms in a plasma,« *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, Jg. 43, Nr. 4, S. 311–317, 1990, ISSN: 0022-4073. DOI: 10.1016/0022-4073(90)90020-7.
- [140] L. ten Bosch, B. Habedank, D. Siebert, J. Mrotzek und W. Vioel, »Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb - A Physical Approach for Pediculosis Treatment,« *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Jg. 16, Nr. 1, 2019. DOI: 10.3390/ijerph16010019.
- [141] G. Cristoforetti, A. de Giacomo, M. Dell’Aglia, S. Legnaioli, E. Tognoni, V. Palleschi und N. Omenetto, »Local Thermodynamic Equilibrium in Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: Beyond the McWhirter criterion,« *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, Jg. 65, Nr. 1, S. 86–95, 2010, ISSN: 0584-8547. DOI: 10.1016/j.sab.2009.11.005.
- [142] B. Eliasson und U. Kogelschatz, »Modeling and applications of silent discharge plasmas,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 19, Nr. 2, S. 309–323, 1991, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/27.106829.
- [143] N. K. Rahman, C. Guidotti und M. Allegrini, Hrsg., *Photons and Continuum States of Atoms and Molecules: Proceedings of a Workshop Cortona, Italy, June 16-20, 1986*, Ser. Springer Proceedings in Physics. Berlin und Heidelberg: Springer, 1987, Bd. 16, ISBN: 978-3-642-71780-2. DOI: 10.1007/978-3-642-71778-9.
- [144] J. Tellinghuisen, »The Franck-Condon Principle,« in *Photons and Continuum States of Atoms and Molecules*, Ser. Springer Proceedings in Physics, N. K. Rahman, C. Guidotti und M. Allegrini, Hrsg., Bd. 16, Berlin und Heidelberg: Springer, 1987, S. 149–156, ISBN: 978-3-642-71780-2. DOI: 10.1007/978-3-642-71778-9\u20821.
- [145] N. S. J. Braithwaite, »Introduction to gas discharges,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 9, Nr. 4, S. 517, 2000, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/0963-0252/9/4/307. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0963-0252/9/4/307/pdf>.
- [146] P. Flesch, *Light and Light Sources: High-Intensity Discharge Lamps*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006, ISBN: 9783540326847. DOI: 10.1007/978-3-540-32685-4. Adresse: <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10176785>.
- [147] F. M. Penning, »ber Ionisation durch metastabile Atome,« *Die Naturwissenschaften*, Jg. 15, Nr. 40, S. 818, 1927, ISSN: 0028-1042. DOI: 10.1007/BF01505431.

- [148] H. Hotop, E. Kolb und J. Lorenzen, »The temperature dependence of penning ionization electron energy spectra: He(23S)—ar, N₂, NO, O₂, N₂O, CO₂,« *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, Jg. 16, Nr. 3, S. 213–243, 1979, ISSN: 0368-2048. DOI: 10.1016/0368-2048(79)80020-1. Adresse: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0368204879800201>.
- [149] G. J. M. Hagelaar und L. C. Pitchford, »Solving the Boltzmann equation to obtain electron transport coefficients and rate coefficients for fluid models,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 14, Nr. 4, S. 722, 2005, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/0963-0252/14/4/011. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0963-0252/14/4/011/pdf>.
- [150] A. Helmke, D. Wandke, M. Mahmoodzada, K.-D. Weltmann und W. Viöl, »Impact of Electrode Design, Supply Voltage and Interelectrode Distance on Safety Aspects and Characteristics of a Medical DBD Plasma Source,« *Contributions to Plasma Physics*, Jg. 53, Nr. 9, S. 623–638, 2013, ISSN: 08631042. DOI: 10.1002/ctpp.201200133.
- [151] F. Peters, B. Hünnekens, S. Wieneke, H. Militz, G. Ohms und W. Viöl, »Comparison of three dielectric barrier discharges regarding their physical characteristics and influence on the adhesion properties on maple, high density fiberboards and wood plastic composite,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 50, Nr. 47, S. 475 206, 2017, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/1361-6463/aa8fad.
- [152] —, »Corrigendum: Comparison of three dielectric barrier discharges regarding their physical characteristics and influence on the adhesion properties of maple, high density fiberboard and wood plastic composite (2017 J. Phys. D: Appl. Phys. 50 475206),« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 51, Nr. 15, S. 159 501, 2018, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/1361-6463/aab378.
- [153] T. Martens, A. Bogaerts, W. Brok und J. van Dijk, »Computer simulations of a dielectric barrier discharge used for analytical spectrometry,« *Analytical and bioanalytical chemistry*, Jg. 388, Nr. 8, S. 1583–1594, 2007. DOI: 10.1007/s00216-007-1269-0.
- [154] E. Bultinck und A. Bogaerts, »Particle-in-cell/Monte Carlo collisions treatment of an Ar/O₂ magnetron discharge used for the reactive sputter deposition of TiO_x films,« *New Journal of Physics*, Jg. 11, Nr. 10, S. 103 010, 2009, ISSN: 1367-2630. DOI: 10.1088/1367-2630/11/10/103010. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1367-2630/11/10/103010/pdf>.
- [155] E. C. Neyts und A. Bogaerts, »Combining molecular dynamics with Monte Carlo simulations: implementations and applications,« *Theoretical Chemistry Accounts*, Jg. 132, Nr. 2, S. 2141, 2013, ISSN: 1432-881X. DOI: 10.1007/s00214-012-1320-x.
- [156] K. van Laer und A. Bogaerts, »Fluid modelling of a packed bed dielectric barrier discharge plasma reactor,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 25, Nr. 1, S. 015 002, 2015, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/0963-0252/25/1/015002. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0963-0252/25/1/015002/pdf>.

-
- [157] K. M. Bal, A. Bogaerts und E. C. Neyts, »Ensemble-Based Molecular Simulation of Chemical Reactions under Vibrational Nonequilibrium,« *The journal of physical chemistry letters*, Jg. 11, Nr. 2, S. 401–406, 2020. DOI: 10.1021/acs.jpcllett.9b03356.
 - [158] S. A. Ouf, A. H. Basher und A.-A. H. Mohamed, »Inhibitory effect of double atmospheric pressure argon cold plasma on spores and mycotoxin production of *Aspergillus niger* contaminating date palm fruits,« *Journal of the science of food and agriculture*, Jg. 95, Nr. 15, S. 3204–3210, 2015. DOI: 10.1002/jsfa.7060.
 - [159] M. Gavahian und P. J. Cullen, »Cold Plasma as an Emerging Technique for Mycotoxin-Free Food: Efficacy, Mechanisms, and Trends,« *Food Reviews International*, Jg. 4, Nr. 1, S. 1–22, 2019, ISSN: 8755-9129. DOI: 10.1080/87559129.2019.1630638.
 - [160] B. Habedank, »Läuse—Biologie, medizinische Bedeutung und Bekämpfung,« *In In Sick through Arthropods*, Nr. 30, S. 191–212, 2010. Adresse: https://www.zobodat.at/pdf/DENISIA_0030_0191-0212.pdf (accessed on 29 November 2019).
 - [161] K. Y. Mumcuoglu, »Prevention and treatment of head lice in children,« *Paediatric drugs*, Jg. 1, Nr. 3, S. 211–218, 1999, ISSN: 1174-5878. DOI: 10.2165/00128072-199901030-00005.
 - [162] Wolfgang Viöl, Stephan Wieneke und Claudia Strauss, »Verfahren und Vorrichtung zum Abtöten von Parasiten und deren Vorformen an filamentösem Gut,« Pat. Adresse: <https://depatisnet.dpma.de/DepatisNet/depatisnet?window=1&space=main&content=einsteiger&action=treffer&firstdoc=1#errmsg>.
 - [163] B. Habedank und T. Hiepe, »In-vitro-Fütterung von Zecken, *Dermacentor nuttalli*, OLE-NEV 1928 (Acari: Ixodidae) über eine Silikonmembran,« *Dermatologische Monatsschrift*, Jg. 1993, Nr. 179, S. 292–295,
 - [164] B. Habedank, G. Schrader, S. Scheurer und E. Schein, Hrsg., *Investigations on the in vitro feeding and in vitro breeding of the human body louse *Pediculus humanus corporis* (Anophura: Pediculidae)*, Proceedings of the 3rd International Conference on Urban Pests, 1999.
 - [165] A. Candeo, F. G. Doccia, G. Valentini, A. Bassi und A. Costa, »Light Sheet Fluorescence Microscopy Quantifies Calcium Oscillations in Root Hairs of *Arabidopsis thaliana*,« *Plant & cell physiology*, Jg. 58, Nr. 7, S. 1161–1172, 2017. DOI: 10.1093/pcp/pcx045.
 - [166] S. Meissner, L. Knels, A. Krueger, T. Koch und E. Koch, »Simultaneous three-dimensional optical coherence tomography and intravital microscopy for imaging subpleural pulmonary alveoli in isolated rabbit lungs,« *Journal of biomedical optics*, Jg. 14, Nr. 5, S. 054020, 2009. DOI: 10.1117/1.3247149.
 - [167] C. Schnabel, M. Gaertner und E. Koch, »Optical Coherence Tomography (OCT) for Time-Resolved Imaging of Alveolar Dynamics in Mechanically Ventilated Rats,« *Applied Sciences*, Jg. 7, Nr. 3, S. 287, 2017. DOI: 10.3390/app7030287.
 - [168] G. F. Ferris und C. J. Stojanovich, *The sucking lice*. San Francisco: [s.n.], 1951. DOI: 10.5962/bhl.title.149669.

- [169] V. K. Natrajan und K. T. Christensen, »Two-color laser-induced fluorescent thermometry for microfluidic systems,« *Measurement Science and Technology*, Jg. 20, Nr. 1, S. 015 401, 2009, ISSN: 0957-0233. DOI: 10.1088/0957-0233/20/1/015401.
- [170] C. R. Robbins, *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*, 5th ed. 2012. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, ISBN: 9783642256103. DOI: 10.1007/978-3-642-25611-0. Adresse: <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10537673>.
- [171] P. M. Barton, »A Forensic Investigation of Single Human Hair Fibres using FTIR-ATR Spectroscopy and Chemometrics,« Dissertation, Queensland University of Technology, Brisbane, 2011. Adresse: <https://eprints.qut.edu.au/41873/>.
- [172] F.-C. Yang, Y. Zhang und M. C. Rheinstädter, »The structure of people's hair,« *PeerJ*, Jg. 2, e619, 2014, ISSN: 2167-8359. DOI: 10.7717/peerj.619.
- [173] A. Proctor und P. M. A. Sherwood, »X-ray photoelectron spectroscopic studies of carbon fibre surfaces. III? Industrially treated fibres and the effect of heat and exposure to oxygen,« *Surface and Interface Analysis*, Jg. 4, Nr. 5, S. 212–219, 1982, ISSN: 0142-2421. DOI: 10.1002/sia.740040508.
- [174] R. Molina, F. Comelles, M. R. Juliá und P. Erra, »Chemical Modifications on Human Hair Studied by Means of Contact Angle Determination,« *Journal of colloid and interface science*, Jg. 237, Nr. 1, S. 40–46, 2001, ISSN: 0021-9797. DOI: 10.1006/jcis.2001.7447.
- [175] V. Dupres, D. Langevin, P. Guenoun, A. Checco, G. Luengo und F. Leroy, »Wetting and electrical properties of the human hair surface: delipidation observed at the nanoscale,« *Journal of colloid and interface science*, Jg. 306, Nr. 1, S. 34–40, 2007, ISSN: 0021-9797. DOI: 10.1016/j.jcis.2006.10.030.
- [176] A. O. Barel, M. Paye und H. I. Maibach, Hrsg., *Handbook of cosmetic science and technology*, 4. ed. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2014, ISBN: 9781842145654.
- [177] B. C. Beard, A. Johnson, F. M. Cambria und P. N. Trinh, »Electron spectroscopy and microscopy applied to chemical and structural analysis of hair,« *Journal of cosmetic science*, Jg. 56, Nr. 1, S. 65–77, 2005, ISSN: 1525-7886.
- [178] S. J. Sterbing-D'Angelo, H. Liu, M. Yu und C. F. Moss, »Morphology and deflection properties of bat wing sensory hairs: scanning electron microscopy, laser scanning vibrometry, and mechanics model,« *Bioinspiration & biomimetics*, Jg. 11, Nr. 5, S. 056 008, 2016. DOI: 10.1088/1748-3190/11/5/056008.
- [179] I. Amenabar, S. Poly, M. Goikoetxea, W. Nuansing, P. Lasch und R. Hillenbrand, »Hyperspectral infrared nanoimaging of organic samples based on Fourier transform infrared nanospectroscopy,« *Nature communications*, Jg. 8, S. 14 402, 2017. DOI: 10.1038/ncomms14402.
- [180] C. Öngel, M. Keleş, E. Acar und Ö. Birer, »Atmospheric Pressure Plasma Jet Treatment of Human Hair Fibers,« *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, Jg. 1, Nr. 1, S. 6705, 2015, ISSN: 2198-4220. DOI: 10.1007/s40735-015-0007-y.

- [181] T. Darny, J.-M. Pouvesle, V. Puech, C. Douat, S. Dozias und E. Robert, »Analysis of conductive target influence in plasma jet experiments through helium metastable and electric field measurements,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 26, Nr. 4, S. 045 008, 2017, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/1361-6595/aa5b15.
- [182] P. Muranyi, J. Wunderlich und M. Heise, »Influence of relative gas humidity on the inactivation efficiency of a low temperature gas plasma,« *Journal of applied microbiology*, Jg. 104, Nr. 6, S. 1659–1666, 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03691.x.
- [183] J. Winter, K. Wende, K. Masur, S. Iseni, M. Dünnbier, M. U. Hammer, H. Tresp, K.-D. Weltmann und S. Reuter, »Feed gas humidity: a vital parameter affecting a cold atmospheric-pressure plasma jet and plasma-treated human skin cells,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 46, Nr. 29, S. 295 401, 2013, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0022-3727/46/29/295401. Adresse: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0022-3727/46/29/295401/pdf>.
- [184] S. Reuter, J. Winter, S. Iseni, A. Schmidt-Bleker, M. Dünnbier, K. Masur, K. Wende und K.-D. Weltmann, »The Influence of Feed Gas Humidity Versus Ambient Humidity on Atmospheric Pressure Plasma Jet-Effluent Chemistry and Skin Cell Viability,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 43, Nr. 9, S. 3185–3192, 2015, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2014.2361921.
- [185] L. Zhu, W. Teng, H. Xu, Y. Liu, Q. Jiang, C. Wang und Y. Qiu, »Effect of absorbed moisture on the atmospheric plasma etching of polyamide fibers,« *Surface and Coatings Technology*, Jg. 202, Nr. 10, S. 1966–1974, 2008, ISSN: 02578972. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2007.08.046.
- [186] K. Liu, Z. Zhu, M. Chen, J. Lei und X. Wu, »An Effective and Convenient Way to Improve the Adhesion Property of the Dental Zirconia Prosthesis by Ar Plasma Jet With the Control of Environmental Humidity,« *IEEE Transactions on Plasma Science*, Jg. 47, Nr. 6, S. 2875–2882, 2019, ISSN: 0093-3813. DOI: 10.1109/TPS.2019.2914504.
- [187] L. Zhu, Wang C. und Y. Qiu, »Influence of the amount of absorbed moisture in nylon fibers on atmospheric pressure plasma processing,« *Surface and Coatings Technology*, Jg. 201, Nr. 16-17, S. 7453–7461, 2007, ISSN: 02578972. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2007.02.012.
- [188] P. Bruggeman und C. Leys, »Non-thermal plasmas in and in contact with liquids,« *Journal of Physics D: Applied Physics*, Jg. 42, Nr. 5, S. 053 001, 2009, ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/0022-3727/42/5/053001.
- [189] P. J. Bruggeman, M. J. Kushner, B. R. Locke, J. G. E. Gardeniers, W. G. Graham, D. B. Graves, R. C. H. M. Hofman-Caris, D. Maric, J. P. Reid, E. Ceriani, D. Fernandez Rivas, J. E. Foster, S. C. Garrick, Y. Gorbaney, S. Hamaguchi, F. Iza, H. Jablonowski, E. Klimova, J. Kolb, F. Krcma, P. Lukes, Z. Machala, I. Marinov, D. Mariotti, S. Mededovic Thagard, D. Minakata, E. C. Neyts, J. Pawlat, Z. L. Petrovic, R. Pflieger, S. Reuter, D. C. Schram, S. Schröter, M. Shiraiwa, B. Tarabová, P. A. Tsai, J. R. R. Verlet, T. von Woedtke, K. R. Wilson, K. Yasui und G. Zvereva, »Plasma–liquid interactions: a review

- and roadmap,« *Plasma Sources Science and Technology*, Jg. 25, Nr. 5, S. 053 002, 2016, ISSN: 0963-0252. DOI: 10.1088/0963-0252/25/5/053002.
- [190] M. Dors, E. Metel, J. Mizeraczyk und E. Marotta, »Pulsed corona discharge in water for coli bacteria inactivation,« in *IEEE International Conference on Dielectric Liquids, 2008*, Piscataway, NJ: IEEE, 2008, S. 1–3, ISBN: 978-1-4244-1585-4. DOI: 10.1109/ICDL.2008.4622538.
- [191] F. Liu, P. Sun, N. Bai, Y. Tian, H. Zhou, S. Wei, Y. Zhou, J. Zhang, W. Zhu, K. Becker und J. Fang, »Inactivation of Bacteria in an Aqueous Environment by a Direct-Current, Cold-Atmospheric-Pressure Air Plasma Microjet,« *Plasma Processes and Polymers*, Jg. 7, Nr. 3-4, S. 231–236, 2010, ISSN: 16128850. DOI: 10.1002/ppap.200900070.
- [192] M. H. Kang, S. S. Jeon, S. M. Shin, M. Veerana, S.-H. Ji, H.-S. Uhm, E.-H. Choi, J. H. Shin und G. Park, »Dynamics of nitric oxide level in liquids treated with microwave plasma-generated gas and their effects on spinach development,« *SCIENTIFIC REPORTS*, Jg. 9, Nr. 1, S. 1011, 2019, ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-018-37711-3.
- [193] J. Hoigné und H. Bader, »Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—I: Non-dissociating organic compounds,« *Water Research*, Jg. 17, Nr. 2, S. 173–183, 1983, ISSN: 0043-1354. DOI: 10.1016/0043-1354(83)90098-2. Adresse: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135483900982>.
- [194] S. Zaja-Milatovic und R. C. Gupta, »Chapter 48 - Excitotoxicity, Oxidative Stress, and Neuronal Injury,« in *Handbook of toxicology of chemical warfare agents*, R. C. Gupta, Hrsg., London: Elsevier/Academic Press, 2015, S. 709–724, ISBN: 978-0-12-800159-2. DOI: 10.1016/B978-0-12-800159-2.00048-8. Adresse: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128001592000488>.
- [195] R. C. Gupta, Hrsg., *Handbook of toxicology of chemical warfare agents*, Second edition. London: Elsevier/Academic Press, 2015, ISBN: 978-0-12-800159-2.
- [196] G. H. Bai, »Variation in Fusarium graminearum and Cultivar Resistance to Wheat Scab,« *Plant Disease*, Jg. 80, Nr. 9, S. 975, 1996, ISSN: 0191-2917. DOI: 10.1094/PD-80-0975.
- [197] E.-M. Becker, C. Herrfurth, S. Irmisch, T. G. Köllner, I. Feussner, P. Karlovsky und R. Splivallo, »Infection of corn ears by Fusarium spp. induces the emission of volatile sesquiterpenes,« *Journal of agricultural and food chemistry*, Jg. 62, Nr. 22, S. 5226–5236, 2014. DOI: 10.1021/jf500560f.
- [198] S. Nutz, K. Döll und P. Karlovsky, »Determination of the LOQ in real-time PCR by receiver operating characteristic curve analysis: application to qPCR assays for Fusarium verticillioides and F. proliferatum,« *Analytical and bioanalytical chemistry*, Jg. 401, Nr. 2, S. 717–726, 2011. DOI: 10.1007/s00216-011-5089-x.
- [199] H. F. Brødsgaard, »Insecticide Resistance in European and African Strains of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) Tested in a New Residue-on-Glass Test,« *JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY*, Jg. 87, Nr. 5, S. 1141–1146, 1994, ISSN: 0022-0493. DOI: 10.1093/jee/87.5.1141.

- [200] J. R. Lamichhane, S. Dachbrodt-Saaydeh, P. Kudsk und A. Messéan, »Toward a Reduced Reliance on Conventional Pesticides in European Agriculture,« *Plant Disease*, Jg. 100, Nr. 1, S. 10–24, 2016, ISSN: 0191-2917. DOI: 10.1094/PDIS-05-15-0574-FE.
- [201] F. Gould, Z. S. Brown und J. Kuzma, »Wicked evolution: Can we address the sociobiological dilemma of pesticide resistance?« *Science*, Jg. 360, Nr. 6390, S. 728–732, 2018, ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.aar3780.
- [202] S. A. Kells, L. J. Masona, D. E. Maier und C. P. Woloshuk, »Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize,« *JOURNAL OF STORED PRODUCTS RESEARCH*, Jg. 37, Nr. 4, S. 371–382, 2001, ISSN: 0022-474X. DOI: 10.1016/S0022-474X(00)00040-0.
- [203] A. Bassi, B. Schmid und J. Huiskens, »Optical tomography complements light sheet microscopy for in toto imaging of zebrafish development,« *Development (Cambridge, England)*, Jg. 142, Nr. 5, S. 1016–1020, 2015. DOI: 10.1242/dev.116970. Adresse: <https://dev.biologists.org/content/develop/142/5/1016.full.pdf>.
- [204] W. Demtröder, *Experimentalphysik 1: Mechanik und Wärme*, 6., überarb. u. akt. Aufl. 2013, Ser. Springer-Lehrbuch. Berlin und Heidelberg: Springer, 2013. DOI: 10.1007/978-3-642-25466-6.
- [205] U. Zimmermann, G. Pilwat, F. Beckers und F. Riemann, »Effects of external electrical fields on cell membranes,« *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, Jg. 3, Nr. 1, S. 58–83, 1976, ISSN: 03024598. DOI: 10.1016/0302-4598(76)85007-6.
- [206] D. S. Dimitrov, »Electric field-induced breakdown of lipid bilayers and cell membranes: a thin viscoelastic film model,« *The Journal of membrane biology*, Jg. 78, Nr. 1, S. 53–60, 1984, ISSN: 0022-2631. DOI: 10.1007/BF01872532.
- [207] J. F. Harrison, K. Adjerid, A. Kassi, C. J. Klok, J. M. VandenBrooks, M. E. Duell, J. B. Campbell, S. Talal, C. D. Abdo, K. Fezzaa, H. Pendar und J. J. Socha, »Physiological responses to gravity in an insect,« *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Jg. 117, Nr. 4, S. 2180–2186, 2020, ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/pnas.1915424117. Adresse: <https://www.pnas.org/content/pnas/117/4/2180.full.pdf>.
- [208] G. Pyrgiotakis, J. McDevitt, T. Yamauchi und P. Demokritou, »A novel method for bacterial inactivation using electrosprayed water nanostructures,« *Journal of Nanoparticle Research*, Jg. 14, Nr. 8, S. 1179, 2012, ISSN: 1388-0764. DOI: 10.1007/s11051-012-1027-x.
- [209] G. Pyrgiotakis, J. McDevitt, Y. Gao, A. Branco, M. Eleftheriadou, B. Lemos, E. Nardell und P. Demokritou, »Mycobacteria inactivation using Engineered Water Nanostructures (EWNS),« *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, Jg. 10, Nr. 6, S. 1175–1183, 2014, ISSN: 1549-9634. DOI: 10.1016/j.nano.2014.02.016.
- [210] M. Henselová, Ľ. Slováková, M. Martinka und A. Zahoranová, »Growth, anatomy and enzyme activity changes in maize roots induced by treatment of seeds with low-temperature plasma,« *Biologia*, Jg. 67, Nr. 3, S. 373, 2012, ISSN: 0006-3088. DOI: 10.2478/s11756-012-0046-5.

- [211] T. Stolárik, M. Henselová, M. Martinka, O. Novák, A. Zahoranová und M. Černák, »Effect of Low-Temperature Plasma on the Structure of Seeds, Growth and Metabolism of Endogenous Phytohormones in Pea (*Pisum sativum* L.),« *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, Jg. 35, Nr. 4, S. 659–676, 2015, ISSN: 02724324. DOI: 10.1007/s11090-015-9627-8.
- [212] A. Zahoranová, M. Henselová, D. Hudecová, B. Kaliňáková, D. Kováčik, V. Medvecká und M. Černák, »Effect of Cold Atmospheric Pressure Plasma on the Wheat Seedlings Vigor and on the Inactivation of Microorganisms on the Seeds Surface,« *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, Jg. 36, Nr. 2, S. 397–414, 2016, ISSN: 02724324. DOI: 10.1007/s11090-015-9684-z.
- [213] A. Zahoranová, L. Hoppanová, J. Šimončicová, Z. Tučková, V. Medvecká, D. Hudecová, B. Kaliňáková, D. Kováčik und M. Černák, »Effect of Cold Atmospheric Pressure Plasma on Maize Seeds: Enhancement of Seedlings Growth and Surface Microorganisms Inactivation,« *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, Jg. 38, Nr. 5, S. 969–988, 2018, ISSN: 02724324. DOI: 10.1007/s11090-018-9913-3.
- [214] C. Müller-Blenkle, M. Schöller, S. Prozell, I. Szallies und C. S. Adler, Hrsg., *Akustische Früherkennung von vorratsschädlichen Insekten mit dem "Beetle Sound Tube"*, 2019. DOI: 10.5073/20190227-105643.
- [215] P. Basaran, N. Basaran-Akgul und L. Oksuz, »Elimination of *Aspergillus parasiticus* from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment,« *Food Microbiology*, Jg. 25, Nr. 4, S. 626–632, 2008, ISSN: 0740-0020. DOI: 10.1016/j.fm.2007.12.005. Adresse: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002008000063>.

Anhang

Veröffentlichungsliste

Peer-Reviewed Paper

„Erratum: ten Bosch et al. Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb—A Physical Approach for Pediculosis Treatment”

MDPI IJERPH, 2020 * Impact: 2.468

DOI: 10.3390/ijerph17020450

„Effects of plasma lice comb on human hair material”
IOP Science Plasma Science and Technology, 2019 *
Impact: 1.193

DOI: 10.1088/2058-6272/ab428b

„Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb—A Physical Approach for Pediculosis Treatment”

MDPI IJERPH, 2018 * Impact: 2.468

DOI: 10.3390/ijerph16010019

„Plasma jet cleaning of optics”
Vakuum in Forschung und Praxis, 2018

DOI: 10.1002/vjpr.201800684

„Insecticidal effects of plasma treated water”
MDPI IJERPH, 2017 * Impact: 2.468

DOI: 10.3390/ijerph14121460

„Plasma-Based Degradation of Mycotoxins Produced by Fusarium, Aspergillus and Alternaria Species”
MDPI Toxins 2017 * Impact: 3.895

DOI: 10.3390/toxins9030097

Poster

„Cold atmospheric pressure plasma as insecticide-free pediculosis treatment approach”

Proceedings: 7th SOVE International Congress 2017

„Zur Insektiziden Wirkung plasmabehandelten Leitungswassers (On Insecticidal properties of plasma treated tap water),”

Proceedings: 18. Fachtagung für Plasmatechnologie, 2017

„Decay of fungal metabolites by atmospheric pressure plasma”

Proceedings: International Conference on Plasma Medicine, Bratislava - Slovakia, 2016

„Cold Atmospheric Pressure Plasma - A novel Pediculosis treatment approach”

Proceedings: International Conference on Plasma Medicine, 2016

„Degradation of Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone by cold atmospheric pressure plasma”

Proceedings: 36th Mycotoxin Workshop, Göttingen, 2014

„Metallic coating of thermally unstable substrates, especially wooden surfaces, by use of a non-thermal atmospheric pressure plasma jet”

Proceedings: 13th International Conference on Plasma Surface Engineering, Garmisch-Partenkirchen, 10. – 14. Sept. 2012

Vorträge

„Plasmaaktiviertes Wasser zur Behandlung von Klaueninfektionen beim Rind”

Invited Speaker at: Innovate! 10/2019

„Atmospheric Pressure Plasma: Prospective tool for inactivation of fungal pathogens and degradation of mycotoxins”

Invited Speaker at: 10th World Mycotoxin Forum, Amsterdam, 03/2018

„Cold atmospheric pressure plasma (CAPP): Applicability and Effect during pediculosis treatment”

Speaker at: 5th International Conference on Plasma Chemistry and Plasma Processing, Paris, 09/2017

„Schädlingsbekämpfung und Mykotoxinabbau mit kalten Atmosphärendruckplasmen”

Speaker at: Kolloquium „Oberflächentechnik und -funktionalisierung“, Technische Universität Clausthal, 2016

Vorträge (Fortsetzung)

„Oberflächendekontamination von Mykotoxinen durch Atmosphärendruckplasmen“

Speaker at: 4. Plasmamedizin-Workshop In Zusammenarbeit mit dem Nationalen Zentrum für Plasmamedizin NZPM, 2015

„Plasma Based Mycotoxin Degradation“

Speaker at: 37th Mycotoxin Workshop, Bratislava - Slovakia, 06/2015

Patente

„Reinigungsgerät und Verfahren zur Reinigung“
Patent: DE102014003692B3; Prio.: 2015

„Verfahren und Vorrichtung zur Trocknung und plasmagestützten Desinfektion von Händen“
Patent: DE102015119446; Prio.: 2015

„Elektrodenanordnung und Plasmabehandlungsvorrichtung für eine Oberflächenbehandlung eines Körpers“
Patent: DE102015112200A1; Prio.: 2014

Weitere Veröffentlichungen sind aktuell zur Veröffentlichung geplant.

Weitere Patente wurden im Jahr 2019 eingereicht und befinden sich aktuell in der Begutachtungsphase durch das DPMA/EPO.